

# Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



## PÓSTERS

### XXXIV Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado Madrid, 25-27 de febrero de 2009

Moderadores: Augusto Villanueva (La Coruña) y Montserrat García Retortillo (Barcelona)

#### «WILSON INDEX» PARA ESTABLECER LA INDICACIÓN DE TRASPLANTE HEPÁTICO EN NIÑOS CON ENFERMEDAD DE WILSON: EVALUACIÓN RETROSPECTIVA

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

Servicio de Hepatología y Trasplante. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid. España.

**Introducción:** La enfermedad de Wilson (EW) tiene tratamiento eficaz. Los pacientes en estado grave al diagnóstico pueden requerir trasplante (TH) debido a riesgo vital hasta que se pueda obtener recuperación con el tratamiento médico. En Hospital King's College fue calculado un score (Wilson Index-WI) dirigido a seleccionar los pacientes infantiles graves que pueden recuperarse con tratamiento médico ( $WI < 11$ ) y los pacientes que deben recibir un trasplante hepático ( $WI \geq 11$ ).

**Objetivos:** Evaluar retrospectivamente el estado clínico-funcional y WI en niños con EW grave, y la actitud tomada respecto al tratamiento, médico o con trasplante.

**Métodos:** Desde 1980 a 2007 fueron atendidos 51 casos de EW en niños, de los cuales 12 (23,5%) presentaban hepatopatía severa, definida por APP  $< 50\%$ , en el momento del diagnóstico.

El diagnóstico de EW fue, según los criterios de Leipzig, «muy sugerente» (4 puntos o más) en 10 casos, y «probable» (2-3 puntos) en 2 (fallo agudo y hepatopatía colestática de larga evolución, respectivamente).

Todos recibieron tratamiento médico (8 con penicilamina, 4 penicilamina+zinc). En 6 niños fue indicado el trasplante hepático debido a la gravedad analítica, con ausencia de mejoría con tratamiento (1) o coexistencia de complicaciones (sangrado: 1, encefalopatía grado III: 3, ascitis: 1).

Fueron revisados retrospectivamente los parámetros que integran el score WI (bilirrubina total, albúmina, AST, INR, Leucocitos) para estimar si hubo concordancia entre score  $\geq 11$  puntos y necesidad de TH, y score  $< 11$  con recuperación sin necesidad de THOSPITAL.

**Resultados:** En los 12 pacientes con hepatopatía grave el WI fue de 3 a 19. Hubo 6 niños con score  $< 11$  y 6 niños con  $\geq 11$ .

De los 6 niños que fallecieron ( $n = 1$ ) o fueron trasplantados ( $n = 5$ ), en 5 la puntuación fue  $\geq 11$ .

De los 6 niños que sobrevivieron sin trasplante, con recuperación de la función hepática, solamente 1 de ellos presentaba una puntuación  $\geq 11$ .

**Conclusiones:** El sistema de puntuación propuesto por KCH aplicado retrospectivamente en esta serie de pacientes con EW e insuficiencia hepática al diagnóstico, tiene un valor predictivo negativo de 83,3% (no necesitaron trasplante 5 de 6 pacientes con  $WI < 11$ ) y un valor predictivo positivo de 83,3% (necesitaron trasplante 5 de 6 pacientes con  $WI \geq 11$ ). Es una herramienta útil para la toma de decisiones.

#### ADHERENCIA AL TRATAMIENTO CON SORAFENIB EN PACIENTES CON HEPATOCARCINOMA

M. Iñarrairaegui<sup>a</sup>, F. Alegre<sup>a</sup>, J.I. Herrero<sup>a,b</sup>, J. Quiroga<sup>a,b</sup>, J. Prieto<sup>a,b</sup> y B. Sangro<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Clínica Universitaria. Pamplona. España.

<sup>b</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas. Pamplona. España.

**Introducción:** Sorafenib ha demostrado eficacia en el tratamiento del hepatocarcinoma avanzado. La aparición de efectos secundarios puede obligar a interrumpir el tratamiento y afectar a su beneficio terapéutico. Su repercusión en la función hepatocelular no está bien establecida.

**Métodos:** Pacientes con hepatocarcinoma avanzado tratados con Sorafenib. Se realizó seguimiento telefónico semanal el primer mes y ambulatorio mensual, registrando la incidencia de efectos adversos y su severidad.

**Resultados:** 21 pacientes (edad media: 64 años) iniciaron tratamiento con Sorafenib (800 mg diarios). El 71% cirróticos (34% Child-Pugh B). La distribución según estadiaje BCLC era B el 52,4% y C el 47,6%. El 86% de los pacientes habían recibido tratamientos previos. La mediana de duración del tratamiento fue de 16 semanas (rango 3-74 semanas). La mediana de supervivencia por intención de tratamiento fue de 9 meses (IC 95% 1,87-16,9). Los principales efectos secundarios fueron: astenia 62% (24% grado 3); anorexia 48% (5% grado 3); diarrea 43% (9% grado 3); pérdida de peso 33%; disfonía y boca seca 33%; toxicidad cutánea 33% (9% grado 3); síndrome mano-pie 28,5% (9% grado 3); hipertensión arterial 19%; alo-

pecía 9%. Por ello, el 33% de los pacientes redujo la dosis o suspendió temporalmente el tratamiento. Un paciente adicional suspendió temporalmente el tratamiento tras una HDA no varicosa. La mediana del tiempo hasta la interrupción temporal o reducción de dosis fue de 2 semanas (IC 95% 0,7-3,2 semanas).

Se produjo un incremento estadísticamente significativo de la bilirrubina (mediana basal 1,53; RIC 1,16-2,62 y mediana del valor máximo entre el 2.º y el 3.º mes de tratamiento 3,25; RIC 1,13-6,8) sin cambios en la función hepática estimada por la actividad de protrombina. Un paciente desarrolló hipertransaminasemia transitoria (> 10 veces VN). 2 pacientes presentaron encefalopatía hepática. El 43% de los pacientes suspendió definitivamente el tratamiento. Los motivos fueron los siguientes: 2 pacientes rechazaron continuar con el tratamiento en ausencia de toxicidad grado 3; en 1 paciente se suspendió por progresión con infiltración duodenal y hemorragia secundaria; en 1 paciente por toxicidad cutánea grado 3; y en 4 por la aparición de los siguientes eventos, cuya relación con el tratamiento se juzgó posible: HDA por lesiones vasculares duodenales (1 caso), angor sin cardiopatía isquémica conocida (1 caso) y encefalopatía hepática (2 casos).

**Conclusión:** Fuera de ensayos clínicos, el tratamiento con sorafenib tiene una tolerancia aceptable en pacientes con HCC. Sus efectos secundarios conocidos rara vez exigen la suspensión del tratamiento. El mejor conocimiento de su perfil toxicológico en los pacientes cirróticos puede contribuir a aumentar más la adherencia al tratamiento. La hiperbilirrubinemia es frecuente pero no necesariamente implica insuficiencia hepática ni debe obligar a suspender el tratamiento.

#### ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA CEREBRAL EN UN MODELO MURINO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MEDIANTE ANÁLISIS DE MICROARRAYS

E. Urtasun Sotil<sup>a,b,c</sup>, M. Guevara<sup>a,b,c</sup>, M. Visser<sup>b,c</sup>, J.J. Lozano<sup>c</sup>, M. Moreno<sup>b,c</sup>, R. Bataller<sup>a,b,c</sup>, V. Arroyo<sup>a,b,c</sup> y P. Gines<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Liver Unit. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona. España.

<sup>c</sup>Centro de Investigaciones Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Barcelona. España.

**Antecedentes:** La encefalopatía hepática (EH) es una complicación neuropsicológica de la cirrosis caracterizada por alteraciones cognitivas y motoras. Es conocido que el amonio juega un papel fundamental en esta enfermedad, sin embargo su patogénesis no está bien caracterizada. Recientemente se ha descrito un nuevo modelo animal de EH, la ligadura del conducto biliar con hiperamoniemia inducida por dieta (BDL+HD), que reproduce las características de la EH humana. El objetivo de nuestro estudio es evaluar las alteraciones de la expresión génica cerebral en este modelo de EH a través del análisis por microarrays.

**Métodos:** Ratas Wistar fueron sometidas a ligadura del conducto biliar (n = 7) u operación control (n = 5). A las 3 semanas de la ligadura, se inició una dieta con amonio al 20% de una semana de duración. Todos los animales fueron sacrificados a las 4 semanas. Evaluamos la presencia de daño hepático a través del análisis bioquímico sérico e histológico. El RNA de la corteza cerebral anterior se obtuvo por columnas RNeasy y se procesaron en los microarrays 230 2.0 de Affymetrix mediante el método Robust Microarray Analysis (RAM). Para determinar la significación estadística de la expresión diferencial de los genes se usaron los métodos Linear Models for Microarray Data (LIMMA) y Significance Analysis of Microarrays (SAM). Finalmente, para el análisis de redes biológicas se usaron Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) e Ingenuity pathways. Los resultados fueron confirmados en un subgrupo de genes por PCR en tiempo real.

**Resultados:** Las ratas sometidas a BDL+HD mostraron una fibrosis hepática marcada y elevación de los niveles séricos de amonio. El 30% de los animales desarrollaron ascitis. El análisis por microarrays de la corteza cerebral anterior mostró que 38 genes estaban sobreexpresados, mientras que 3 genes estaban infraexpresados en valores al menos 1,5 veces por encima o por debajo de los valores de las ratas control respectivamente. Entre los genes sobreexpresados, encontramos genes cuyo aumento en la EH es conocido tal como es el receptor de las benzodiazepinas tipo periférico, y de otros no descritos tales como la metalotioneína 1a y la similar a 2, S100a8, S100a9, Hephastin, Xantina deshidrogenasa, receptor de la proteína tirosina fosfatasa tipo C, inhibidor tisular de metaloproteínasa-3 y la histona 1.2. Asimismo, encontramos 3 genes infraexpresados: el slc5a11, el slc25a18 y la troponina C tipo 2. Los genes sobreexpresados en este estudio participan sobre todo en procesos de inflamación, estrés oxidativo y muerte celular, mientras que los infraexpresados lo hacen en transporte de solutos.

**Conclusión:** Usando un análisis por microarrays de la totalidad del genoma de la rata, hemos identificado genes sobre o infraexpresados en la corteza cerebral de un modelo murino de EHOSPITAL. El estudio en mayor profundidad de estos genes podría ayudarnos a avanzar en el conocimiento de la patogénesis y a mejorar las opciones terapéuticas de la EHOSPITAL.

#### ALTERACIÓN DE LAS UNIONES INTERCELULARES Y LA POLARIDAD CELULAR POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN HEPATOCITOS

I. Benedicto<sup>a,e</sup>, F. Molina-Jiménez<sup>a,e</sup>, J. Prieto<sup>b,e</sup>, R. Moreno-Otero<sup>c,e</sup>, R. Aldabe<sup>b,e</sup>, M. López-Cabrera<sup>a,d,e</sup> y P.L. Majano<sup>a,e</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

<sup>b</sup>División de Terapia Génica y Hepatología. Centro de Investigación en Medicina Aplicada (CIMA). Pamplona. España.

<sup>c</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

<sup>d</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Madrid. España.

<sup>e</sup>CIBERehd.

**Introducción:** La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) puede causar alteraciones en la arquitectura hepática y del árbol biliar provocando colestasis. En el hígado las uniones intercelulares estrechas (tight junctions/TJ) desempeñan un papel determinante en el mantenimiento de la polaridad celular y en la formación del canalículo biliar. En este trabajo empleamos un sistema de replicación in vitro del VHC con objeto de determinar el efecto de este virus sobre la estructura y funcionalidad de las uniones intercelulares y la polaridad en células derivadas de hepatocitos humanos.

**Materiales y métodos:** La composición, estructura y funcionalidad de las uniones intercelulares se analizó mediante microscopía confocal y ensayo de permeabilidad en la línea celular derivada de hepatoma humano Huh-7 y en clones generados en esta línea celular conteniendo un replicón genómico del VHC (pI389/Core-3'/5.1). Las distintas líneas celulares fueron cultivadas directamente sobre placa, sistema en 2 Dimensiones (2D), o incluidas en matrigel, cultivo en 3 dimensiones (3D), método que permite la formación de cultivos altamente polarizados (organoides).

**Resultados:** En el sistema en 2D, las proteínas asociadas a TJ occludina, claudina-1 y Zonula Occludens protein-1 (ZO-1) desaparecieron de su localización habitual en la zona de contacto intercelular en células que contienen el replicón genómico del VHC. La funcionalidad de las uniones intercelulares, medida como la permeabilidad paracelular a dextrano, también presentaba alteraciones en células con el replicón genómico en comparación con la lí-

nea parental. En el sistema en 3D, mientras que las células Huh-7 forman estructuras semejante a canaliculos biliares, en células conteniendo el replicón del VHC estas estructuras no fueron detectadas.

**Conclusion:** Estos resultados sugieren que las proteínas del VHC alteran las uniones intercelulares estrechas, afectando a la polarización celular y a la formación del canaliculo biliar.

#### ANÁLISIS DE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS DELTA EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA: INFLUENCIA DE LA COINFECCIÓN POR VIH Y EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

A. Madejón<sup>a</sup>, G.B. Gaeta<sup>b</sup>, J. García-Samaniego<sup>a</sup>, M. Bottecchia<sup>a</sup>, M. Romero<sup>a</sup>, L. Martín-Carbonero<sup>a</sup>, A. García-Sánchez<sup>a</sup> y V. Soriano<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Servicios de Hepatología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. CIBEREHD. Madrid. España.*

<sup>b</sup>*Unidad de Hepatitis Virales. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Universidad de Nápoles. Nápoles. Italia.*

**Objetivo:** Análisis virológico longitudinal en pacientes con hepatitis crónica delta (HCD) atendidos en dos hospitales de España e Italia.

**Métodos:** Se analizaron 226 muestras de plasma correspondientes a 42 pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis delta (VHD) con un tiempo medio de seguimiento de  $26,1 \pm 16,4$  meses. Veinticuatro (57%) pacientes eran VIH-negativos, 36 (85%) presentaban anti-HBe y 39 (93%) eran seronegativos frente al VHC. Seis (25%) pacientes VIH negativos fueron tratados con interferón (IFN) estándar o pegilado y 18 pacientes VIH-positivos recibían TARGA con fármacos anti-VHB (tenofovir y/o lamivudina/emtricitabina). El ARN-VHD se cuantificó por una técnica de PCR *in-house* (límite de detección: 10 copias/ml). El ADN-VHB se cuantificó con el sistema COBAS-AMPLICOR (Roche, límite de detección: 400 copias/ml) y los genotipos del VHB se determinaron mediante InnoLIPA (Innogenetics).

**Resultados:** Los niveles basales de ARN-VHD fueron más elevados en los pacientes VIH-positivos que en los VIH-negativos ( $4 \times 10^7$  vs  $6,8 \times 10^6$  copias/ml;  $p = 0,073$ ). En los pacientes VIH-negativos no tratados se observaron diferentes patrones de replicación del VHD: el ARN-VHD fue persistentemente positivo durante el seguimiento en 11/18 (61%) pacientes, intermitente en 3 (17%) y negativo en otros 3 (17%) pacientes. Todos los pacientes coinfectados por VIH tenían viremia delta detectable. Durante el tratamiento con IFN se observó una reducción significativa de los niveles de ARN-VHD en 5/6 (83%) de los pacientes tratados y en 10 (62,5%) de los 18 pacientes VIH-positivos que recibían TARGA. Después del tratamiento con IFN todos los pacientes presentaron recaída virológica. El ADN-VHB fue positivo en 11 (46%) pacientes VIH-negativos, si bien con cifras bajas de carga viral (rango:  $4 \times 10^2 - 10^4$  IU/mL). La distribución de los genotipos del VHB en 10 de estos pacientes fue: D:8, A:1 y E:1. Las cifras de viremia B fueron mayores en el grupo VIH-positivo (rango:  $2 \times 10^3 - 10^7$  IU/mL) en 10 (56%) de 18 pacientes. La distribución de los genotipos del VHB en este grupo fue: D:6 y A:4.

**Conclusiones:** La mayoría de los pacientes con HCD presenta viremia delta detectable a títulos elevados. Los pacientes VIH-positivos presentan cifras de ARN-VHD más elevadas que los pacientes sin infección por VIH. Los regímenes de TARGA que incluyen fármacos activos frente al VHB parecen tener un efecto inhibitorio indirecto sobre la replicación del VHD. El tratamiento con IFN suprime la replicación del VHD en la mayoría de los pacientes, pero la recaída después de su finalización es generalizada.

#### ANÁLISIS FUNCIONAL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA HEPÁTICA POR MICROARRAYS EN PACIENTES CON HEPATITIS ALCOHÓLICA: IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS

M. Domínguez<sup>a</sup>, J.J. Lozano<sup>a</sup>, A. Loaeza<sup>a</sup>, R. Miquel<sup>b</sup>, J. Colmenero<sup>a</sup>, M. Moreno<sup>a</sup>, J.C. García-Pagán<sup>a</sup>, J. Bosch<sup>a</sup>, V. Arroyo<sup>a</sup>, P. Ginès, J. Caballería<sup>a</sup> y R. Bataller<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Servicio de Hepatología. Institut Clínic Malalties Digestives i Metabòliques. Barcelona. España.*

<sup>b</sup>*Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD). Barcelona. España.*

**Introducción y objetivo:** La hepatitis alcohólica (HA) es una enfermedad que ocurre en pacientes con abuso crónico de alcohol y forma parte del espectro de la enfermedad hepática alcohólica. En su forma grave, la HA se asocia a una elevada mortalidad a corto plazo, no siendo efectivos los tratamientos actuales. La patogénia de la HA es poco conocida, existiendo una clara necesidad de identificar vías patogénicas para desarrollar nuevas dianas terapéuticas. El objetivo de este estudio fue identificar vías patogénicas de la HA por medio del análisis funcional de la expresión génica hepática determinada por *microarrays* en pacientes con HA.

**Métodos:** Se incluyó a 17 pacientes con HA que ingresaron prospectivamente en el Servicio de Hepatología del Hospital Clínic de Barcelona durante el periodo 2003-2006. Se evaluó la expresión hepática de 20.000 genes por *microarrays* de ADN (*chip Affymetrix Hgu133plus2*) a partir de ARN extraído de pacientes con HA. Se comparó la expresión génica con fragmentos de hígado sano de pacientes sometidos a hepatectomía ( $n = 7$ ). Para el estudio funcional e identificación de vías patogénicas se usó el programa GSEA con la base de datos KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Gene and Genomics*). Se utilizó el software LIMMA para identificar genes expresados diferencialmente de una manera estadísticamente significativa ( $FDR < 5\%$ ). Algunos genes fueron seleccionados para su validación por PCR cuantitativa.

**Resultados:** La edad mediana de los pacientes fue 49 años, 72% tenían una HA grave (según el índice ABIC) y 55% presentaban signos histológicos de cirrosis hepática. El análisis no supervisado de *clustering* diferenció una expresión génica diferencial masiva entre los pacientes con HA y los controles ( $p < 0,001$ ). El análisis funcional mediante la base de datos KEGG identificó 7 vías en pacientes con HA: vía de la comunicación celular (24 genes), vía de la interacción del receptor de matriz extracelular (24 genes), vía de la adhesión focal (58 genes), vía del ciclo celular (49 genes), vía de la interacción del receptor de citocina-citocina (33 genes), vía de la unión de GAP (15 genes) y la vía de la síntesis del aminoacil-tARN (23 genes). Se validó por PCR cuantitativa la expresión de 6 genes de la familia de las quimiocinas CXC: CXCL-1, CXCL5, CXCL6, CXCL10, IL-8 y CXCL4.

**Conclusiones:** El análisis funcional de la expresión génica hepática en pacientes con HA permite identificar 7 vías patogénicas implicadas en esta enfermedad. Estas vías pueden constituir nuevas dianas terapéuticas.

## APLICABILIDAD Y TOLERANCIA DEL SORAFENIB EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON CHC. EXPERIENCIA DEL PRIMER AÑO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA CONVENCIONAL

M.E. Reig<sup>a</sup>, A. Forner<sup>a</sup>, J. Rimola<sup>b</sup>, C. Rodríguez de Lope<sup>a</sup>, C. Ayuso<sup>b</sup>, J.M. Llovet<sup>a</sup> y J. Bruix<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBEREHD. Universidad de Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servicio de Radiodiagnóstico. Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC). Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBEREHD. Universidad de Barcelona. España.

**Introducción y objetivo:** Sorafenib mejora la supervivencia y enlentece la progresión tumoral en pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) en estadio avanzado (Llovet et al. NEJM 2008). El objetivo de este estudio es evaluar la aplicabilidad y tolerancia del sorafenib en la práctica clínica convencional. Se registró prospectivamente los pacientes remitidos para valorar tratamiento con sorafenib entre Oct. 2007 – Oct. 2008. Sólo se consideró el tratamiento en pacientes Child-Pugh A o B: 7 puntos con tensión arterial controlada sin enfermedad vascular inestable.

**Resultados:** 111 pacientes se evaluaron para iniciar sorafenib; 41 presentaron contraindicación, 10 no lograron recibir el tratamiento y 60 iniciaron el tratamiento (edad mediana 66 años [41-77], 83,3% hombres, 87% Child-Pugh A, 63% VHC+, 58% estadio B y 42% estadio C de la clasificación BCLC). Tras una mediana de seguimiento de 187 días [4-354], 46 pacientes necesitaron modificación de dosis (20 reducción a mitad de dosis y 26 se suspensión transitoria) en un periodo medio de 22 días (3-296). Se reinició el tratamiento en 23 pacientes tras una mediana de 15 días (3-182). Las principales causas de modificación de dosis fueron: síndrome maniaco (29,8%), deterioro funcional (19,1%), hipertensión arterial (10,6%) y pancreatitis aguda (6,4%). Doce pacientes suspendieron definitivamente sorafenib y 5 fallecieron. No hubo muertes asociadas al tratamiento.

**Conclusión:** El tratamiento con sorafenib fue aplicado en el 66% de los potenciales candidatos y es seguro si se aplica a en pacientes correctamente seleccionados.

## APLICACIÓN DE UN NUEVO ENSAYO DE HIBRIDACIÓN REVERSA CON SONDAS INNO-LIPA PARA LA DETECCIÓN DE VARIANTES DEL VHB ASOCIADAS A LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON ENTECAVIR

D. Tabernero<sup>a,b</sup>, M. Homs<sup>a,b</sup>, M. Schaper<sup>a,b</sup>, R. Jardí<sup>a,b,c</sup>, F. Rodríguez-Frías<sup>a,b,c</sup>, C. Carnicer<sup>c</sup>, M. Buti-Ferret<sup>a,b,d</sup> y R. Esteban<sup>a,b,d</sup>

<sup>a</sup>Ciberehd. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas. Ministerio de Sanidad y Consumo. España.

<sup>b</sup>ViRgil. European Network of Excellence on Antiviral Drug Resistance (ViRgil LSHM-CT-2004-503359).

<sup>c</sup>Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Servicio de Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

**Introducción:** Las variantes de la polimerasa del virus de la hepatitis B (VHB) asociadas a la resistencia al tratamiento con Entecavir (ETV) se detectan habitualmente por secuenciación directa. Sin embargo este método es laborioso y poco sensible, especialmente para la detección de las poblaciones virales mixtas.

**Objetivo:** Evaluar un nuevo ensayo de hibridación reversa (INNO-LIPA HBV DR v3-LIPA Innogenetics) para la detección de mutaciones de la polimerasa del VHB asociadas a la resistencia al tratamiento con ETV.

**Pacientes y métodos:** Se ha analizado 119 muestras de suero de 59 pacientes con hepatitis crónica por VHB no respondedores al tratamiento con análogos de nucleósidos/nucleótidos: 35 con Lamivudina (LVD), 20 con Adefovir (ADV) y 4 con ETV. Las muestras se obtuvieron en pretratamiento y al detectarse falta de respuesta a éste. El ensayo INNO-LIPA permite obtener patrones de bandas para variantes resistentes a ETV en los codones: rt184 (no-mutada T y 2 grupos de mutantes S, C, G, A y I, L, F, M); rt202 (no-mutada S y mutantes G, C y I); rt250 (no-mutada M y mutantes V, I y L). Así mismo, permite estudiar la variante rtA194T, relacionada con resistencia a Tenofovir (TDF) y la rtI233V relacionada con resistencia a ADV, que no se han valorado en este trabajo. Para estudiar la sensibilidad del ensayo las muestras que presentaron variantes resistentes a ETV por INNO-LIPA se procesaron por secuenciación. Para testar la especificidad se analizaron 4 clones sin mutaciones para LVD, ADV, ETV y TDF.

**Resultados:** En pre-tratamiento se detectaron mutaciones asociadas a resistencia a ETV en 5 casos (8,5%) (2 en la posición rt184, 2 en rt202 y 1 en rt250), ninguno con variantes resistentes a LVD; estas variantes se continuaron detectando durante los tratamientos posteriores con LVD o ADV. De los 35 pacientes no-respondedores a LVD en 4 (11%) emergieron resistencias a ETV (2 en rt184, 2 en rt202). En ninguno de los 20 no respondedores a ADV se seleccionaron variantes resistentes a ETV. De los 4 no respondedores a ETV, en un caso con tratamiento secuencial previo con LVD y ADV, se detectó la mutación rtS202S/G, coincidiendo con un incremento del ADN-VHB. Los resultados obtenidos por LIPA, en los pacientes que se detectaron variantes resistentes a ETV, concuerdan con los obtenidos por secuenciación directa en 11 casos (73,3%), en los 4 restantes (26,7%) sólo se detectaron variantes no-mutadas por secuenciación mientras que por LIPA eran mixtas. En el análisis de los clones por el ensayo LIPA solo se detectaron las variantes no-mutadas.

**Conclusiones:** Los resultados obtenidos demuestran que el ensayo INNO-LIPA HBV DR v3 es un método específico y con una sensibilidad mayor que la secuenciación, para la detección y monitorización de variantes asociadas a la resistencia a ETV. La capacidad de detectar mutaciones en ausencia de tratamiento con ETV (pacientes naïve y durante la terapia con LVD) permite una adecuada selección de la terapia antiviral.

## ATROFIA NERVIOSA SIMPÁTICA COMO POSIBLE FACTOR CONTRIBUYENTE A LA VASODILATACIÓN DE LA ARTERIA MESENTÉRICA SUPERIOR EN LA HIPERTENSIÓN PORTAL EXPERIMENTAL

M. Coll<sup>a</sup>, I. Laurell<sup>a</sup>, J. Bosch<sup>b</sup>, J. Genescà<sup>a</sup> y M. Martell<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Enfermedades Hepáticas. Departamento de Medicina Interna. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Institut de Recerca. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Laboratorio de Hemodinámica Hepática. IMDIM. Hospital Clínic. Ciberehd. Institut de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer. Barcelona. España.

**Antecedentes:** La hipertensión portal provoca una inhibición de la producción de RNAm y proteínas implicadas en la transmisión adrenérgica en la arteria mesentérica superior (SMA) de ratas con ligadura de la vena porta (PVL) y ratas con cirrosis por tetracloruro de carbono. Esta inhibición del sistema adrenérgico podría contribuir a la vasodilatación esplácnica (Coll, et al. J Hepatol 2008).

**Objetivos:** 1) Averiguar si la inhibición de la transmisión adrenérgica se acompaña de una atrofia nerviosa simpática; 2) localizar el origen de los RNAm implicados en la transmisión adrenérgica en muestras de SMA, y 3) comprobar si también existe inhibición de la neurotransmisión simpática en arterias mesentéricas de resistencia de ratas PVL comparadas con ratas sham.

**Material y métodos:** La vía de transmisión adrenérgica se evaluó en ratas PVL y sham mediante: 1) inmunohistoquímica de tirosina hidroxilasa (Th) en muestras de SMA; 2) RT-PCR del gen de Th y de la dopamina b-hidroxilasa (Dbh) en secciones de SMA proximales y distales a la aorta. Detección de RNAm de Th en SMA y en ganglio mesentérico simpático por hibridación *in situ* con una sonda de RNA marcada con digoxigenina, y 3) cuantificación por Western blot en arterias mesentéricas de resistencia de las proteínas Th, Dbh y Dopa decarboxilasa (implicadas en la síntesis de noradrenalina) y de la Proteína asociada al sinaptosoma (Snap25) (responsable de la liberación de neurotransmisores).

**Resultados:** 1) la inmunohistoquímica de Th mostró una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del área total de los paquetes nerviosos, del área que expresa Th, así como del número de paquetes axonales que envuelven la SMA en ratas PVL con respecto a las sham; 2) la RT-PCR reveló una mayor cantidad de RNAm de Th y Dbh en las secciones de SMA más proximales. Además, se localizó RNAm de Th por hibridación *in situ* en el ganglio mesentérico y en los paquetes axonales peri-SMA, y 3) la inhibición de las proteínas relacionadas con el sistema adrenérgico también se observó en las arterias mesentéricas de resistencia de ratas PVL comparadas con las sham.

**Conclusiones:** La hipertensión portal podría provocar una atrofia o regresión de la inervación simpática que rodea la SMA y las arterias de resistencia mesentéricas de las ratas PVL, que contribuiría a la vasodilatación esplácnica asociada a la hipertensión portal. Las proteínas implicadas en la transmisión adrenérgica se sintetizan en el ganglio mesentérico simpático, así como en la zona proximal de los paquetes nerviosos de la SMA.

## CAMBIOS EN LA EPIDEMIOLOGÍA Y FORMA DE PRESENTACIÓN DE LA HEPATITIS DELTA EN LOS ÚLTIMOS 26 AÑOS

M. Homs<sup>a,e</sup>, G. Funalleras<sup>b</sup>, D. Tabernero<sup>a,e</sup>, M. Schaper<sup>a,c,e</sup>, F. Rodríguez-Frías<sup>a,c,e</sup>, R. Jardí<sup>a,c,e</sup>, S. Sauleda<sup>d</sup>, R. Esteban<sup>a,b,e</sup> y M. Buti<sup>a,b,e</sup>

<sup>a</sup>CIBERehd. Ministerio de Sanidad y Consumo. Instituto Carlos III. Madrid. España.

<sup>b</sup>Departamento de Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Departamento de Bioquímica. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Laboratorio de Seguridad Transfusional. Banco de Sangre y Tejidos.

<sup>e</sup>Virgil. European Network of Excellence on Antiviral Drug Resistance (Virgil-LSHM-CT-2004-503359).

**Introducción y objetivos:** La prevalencia de infección por el Virus de la Hepatitis Delta (VHD) en España en la década de los 80-90 era del 7-10%. No existen datos recientes sobre la prevalencia de esta infección.

El objetivo del estudio ha sido evaluar los cambios en el patrón epidemiológico de infección por VHD en los últimos 26 años así como analizar la forma de presentación y evolución clínica de los casos detectados.

**Pacientes y métodos:** Estudio retrospectivo, longitudinal y descriptivo que incluyó a todos los pacientes consecutivos a los que se detectó HBsAg y anti-VHD, entre 1983 y agosto de 2008. Se analizaron los datos demográficos, factores de riesgo, tipo de infección y marcadores serológicos del VHB, VHD, VIH y VHC. La evolución clínica se determinó en todos los pacientes que tuvieron un seguimiento mínimo de 6 meses.

**Resultados:** En total se incluyeron 504 pacientes. De ellos, 407 (81%) eran varones, edad media de  $29 \pm 11$  años y 95% nacidos en España. La forma de presentación fue como hepatitis aguda Delta

	1983-1995 Núm = 390	1996-2008 Núm = 113	p
Edad media	25 $\pm$ 8	36 $\pm$ 11	0,002
% Varones	82%	76%	NS
% Inmigrantes	1%	19%	0,001
ADVP	75%	45%	0,001
HBeAg positivo	44%	23%	0,001
Anti-VIH positivo	71%	41%	0,001
Anti-VHC positivo	67%	46%	0,001
Hepatitis agudas	161 (41%)	6 (5%)	0,001
Coinfecciones	140	3	0,001
Sobreinfecciones	21	3	0,001
Hepatitis crónicas	167 (43%)	91 (80%)	0,001
Sin diagnóstico	62 (16%)	16 (15%)	0,001

en 167 (33%) casos, 258 (51%) como hepatitis Delta crónicas y en 79 (16%) casos no se estableció un diagnóstico por información insuficiente y fueron excluidos. En la tabla se muestran las características destacables de los pacientes agrupados en dos periodos; 1983-1995 y 1996-2008 que correspondían cada uno de ellos a la mitad del tiempo total del estudio. La prevalencia de nuevos casos de hepatitis Delta desde 2000-2007 fue de entre 1-2%.

La evolución clínica se determinó en 278 casos, de las 123 hepatitis agudas B y D (103 coinfecciones y 20 sobreinfecciones), 1,6% presentaron un curso fulminante, 86% de las coinfecciones se curaron y 95% de las sobreinfecciones cronicaron. De las 155 hepatitis crónicas D, 16 (10%) presentaron una descompensación de la enfermedad hepática y/o 9 requirieron un trasplante hepático. Veintinueve pacientes fallecieron, 15 (52%) por causa hepática, 8 (27%) por complicaciones asociadas a SIDA y 6 (21%) por causas no relacionadas con su enfermedad hepática.

**Conclusiones:** La prevalencia del VHD ha descendido en los últimos 26 años, especialmente los casos de hepatitis aguda Delta. En la actualidad los casos nuevos de hepatitis delta se presentan en forma de hepatitis crónica D y más comúnmente en sujetos de mayor edad, HBeAg negativo, inmigrantes y sin coinfección por VIHOS-PITAL

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR E IMPACTO PRONÓSTICO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR DE PROBABLE ORIGEN EN CÉLULAS PROGENITORAS

A. Villanueva<sup>a</sup>, P. Newell<sup>b</sup>, V. Tovar<sup>a</sup>, C. Alsinet<sup>a</sup>, H. Cornella<sup>a</sup>, B. Minguez<sup>a</sup>, D.Y. Chiang<sup>c</sup>, J. Peix<sup>a</sup>, L. Cabellos<sup>b</sup>, S. Toffanin<sup>b</sup>, M. Fiel<sup>b</sup>, S. Thung<sup>b</sup>, Y. Hoshida<sup>c</sup>, V. Mazzaferro<sup>d</sup>, J. Bruix<sup>a</sup>, S. Roayaie<sup>b</sup>, M. Schwartz<sup>b</sup>, S.L. Friedman<sup>b</sup> y J.M. Llovet<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Laboratori de Recerca Translacional d'Oncologia Hepàtica. BCLC Group. CIBEREHD. IDIBAPS. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Liver Cancer Program. Mount Sinai School of Medicine. New York. USA.

<sup>c</sup>Cancer Program. Broad Institute of Harvard and MIT. Cambridge. USA.

<sup>d</sup>National Cancer Institute. IRCSS Foundation. Milan. Italia.

**Introducción:** Estudios recientes sugieren la implicación de *cancer stem cells* en la patogenia molecular del carcinoma hepatocelular (CHC). Datos preliminares determinan que marcadores de células progenitoras categorizan un subgrupo de CHC con un comportamiento clínico particularmente agresivo.

**Objetivos:** Evaluar (1) las alteraciones moleculares y (2) el impacto pronóstico de un subgrupo de CHC con marcadores fenotípicos sugestivos de origen celular de estirpe progenitora.

**Métodos:** Se analizaron 337 muestras de CHC humano en 2 cohortes ( $n = 73$  CHC asociado a VHC, y  $n = 264$  CHC de diferentes etiologías). Se determinó la presencia de marcadores de células progenitoras (EpCAM, CK19 y CD133) mediante inmunohistoquímica, y se correlacionaron con datos de expresión génica (Affymetrix U133 Plus 2.0 y sondas Taqman), alteraciones en el número de copias de DNA (Affymetrix 500K Sty-array) y activación de vías de señalización ( $\beta$ catenina, EGFR, RAS, IGF y mTOR). Para evaluar *gene sets* y firmas génicas significativamente asociadas a la presencia de marcadores progenitores se emplearon el *Gene Set Enrichment Analysis* (GSEA) y el *SAMR package*. Finalmente, se analizaron las correlaciones clínico-patológicas y el impacto pronóstico de la presencia de marcadores progenitores mediante curvas Kaplan-Meier (log-rank test) y el test de riesgos proporcionales de Cox.

**Resultados:** EpCAM y CK19 fueron positivos en 14/73 (19.7%) y 9/73 (12.3%) de los CHC, respectivamente. Existía una alta correlación entre los dos marcadores ( $p < 0,001$ ) y ambos se agruparon de forma significativa en la subclase de proliferación de la clasificación molecular del CHC ( $p < 0,01$ ). Asimismo, EpCAM y CK19 estaban significativamente asociados a activación de la vía del IGF-AKT-mTOR ( $p < 0,01$ ). GSEA mostró desregulación significativa de *gene sets* relacionados con ciclo celular y señalización a través de PI3K en tumores CK19+. Entre los genes más sobreexpresados, destacaban genes implicados en reparación del DNA y recombinación mitótica (RAD54L), así como genes que interactúan con Rb (CENPF). Los pacientes con tumores positivos para CK19 presentaban niveles elevados de AFP ( $p < 0,01$ ) y significativamente más invasión macrovascular (42 vs 6%,  $p = 0,01$ ), mientras que EpCAM se asocia a tumores multinodulares (41 vs 12%,  $p = 0,02$ ). Con respecto al pronóstico de los pacientes, CK19+ (HR: 4,1,  $p = 0,004$ ), satelitosis (HR: 2,3,  $p = 0,001$ ) y multinodularidad (HR: 1,8,  $p = 0,011$ ) fueron las variables asociadas independientemente con recurrencia tumoral en la cohorte de validación.

**Conclusiones:** Existe un subgrupo de CHC (15%) caracterizado por marcadores fenotípicos que sugieren origen celular de estirpe progenitora. Estos pacientes pertenecen a la subclase de proliferación de la clasificación molecular del CHC, presentan rasgos patológicos sugestivos de agresividad biológica (invasión macrovascular y multinodularidad) y se asocian a peor pronóstico en términos de recurrencia tumoral.

## CARCINOMA HEPATOCELULAR EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA: ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO EN DOS SERIES EUROPEAS

A. Cavazza<sup>a</sup>, A. Floreani<sup>a</sup>, L. Caballería<sup>b</sup>, D. Caroli<sup>a</sup>, M. Bruguera<sup>b</sup>, F. Farinati<sup>a</sup> y A. Parés<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Ciencias Quirúrgicas y Gastroenterológicas. Universidad de Papua. Italia.

<sup>b</sup>Unidad de Hepatología. Institut de Malalties Digestives. Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBEREHD. Barcelona. España.

Existen pocos datos y cierta controversia sobre la prevalencia e incidencia, así como los factores de riesgo para el desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC) en la cirrosis biliar primaria (CBP) debido a la escasa frecuencia de esta enfermedad. Asimismo, tampoco se conoce la influencia geográfica de este problema. Por este motivo, se ha evaluado la incidencia y prevalencia de CHC en la CBP así como definir los factores de riesgo asociados al desarrollo tumoral.

El estudio ha sido realizado en dos series de pacientes con CBP procedentes de dos centros europeos (Barcelona y Padua). Se incluyeron un total de 716 pacientes (389 de Barcelona y 327 de Padua), seguidos durante un período medio de  $9,5 \pm 6$  años en Barcelona y de  $9,1 \pm 7,7$  años en Padua. Las características demográficas y los

factores posiblemente asociados al desarrollo tumoral (sexo varón, edad superior a 52 años, hábito tabáquico, consumo de alcohol, presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HbsAg) y de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (HCV), y estadio histológico avanzado (III-IV), se evaluaron como potenciales factores de riesgo.

Veinticuatro pacientes (13 de Barcelona y 11 de Padua) desarrollaron un hepatocarcinoma. La prevalencia de CHC fue similar en Barcelona y en Padua (3,34 y 3,36%, respectivamente). La incidencia también fue similar en las dos series (0,35 y 0,37 casos/100 pacientes/año, respectivamente). La edad superior a 52 años, el sexo masculino, el consumo de alcohol y de tabaco y la presencia de HbsAg no se asociaron a la presencia de CHC. La presencia de anticuerpos frente al VHC tampoco representó un factor de riesgo de CHC (OR: 4,14 95% IC 1,15-14,94  $p$ : n.s.), aunque se observó una tendencia en la serie de Padua, debido a la mayor prevalencia de anticuerpos frente al VHC en la serie italiana (5,8%) con respecto a la española (1,8%). El estadio histológico avanzado en el momento del diagnóstico de la CBP fue el único factor asociado al desarrollo de CHC (OR: 5,80, 95% IC: 2,34-14,38,  $p < 0,001$ ). Cuando se analizaron independientemente las series de Barcelona y de Padua se observó que en Italia el sexo masculino también se asoció a mayor probabilidad de desarrollo de CHC (OR: 8,09, IC 95%: 1,93-33,8,  $p < 0,01$ ).

En conclusión, la incidencia de CHC en la CBP es similar en Italia y en España, y el estadio histológico avanzado es el único factor de riesgo común de CHC en esta enfermedad. Las pequeñas diferencias observadas en las dos series pueden explicarse por las características de la CBP en el momento del diagnóstico en los dos centros.

## CISTATINA C: MARCADOR DE FUNCIÓN RENAL Y CARDÍACA EN EL PACIENTE CIRRÓTICO, ANTES Y DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

V. Bernal<sup>a</sup>, I. Pascual<sup>b</sup>, C. Fernández<sup>b</sup>, P. Esquivias<sup>a</sup>, A. García Gil<sup>c</sup>, M.T. Serrano<sup>a</sup> y M.A. Simón<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España.

<sup>b</sup>Cardiología. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España.

<sup>c</sup>Cirugía General. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España.

**Introducción:** El diagnóstico precoz de la insuficiencia renal (IR) es fundamental en el paciente cirrótico. La Cistatina C (CisC) ha demostrado ser un marcador sensible y precoz de IR. Se ha sugerido su utilidad como marcador de riesgo de mortalidad y de eventos cardiovasculares.

**Objetivo:** valorar la fiabilidad de la CisC para el diagnóstico de IR en el cirrótico candidato a trasplante hepático (TH) y su correlación con la miocardiopatía cirrótica y la aparición de eventos cardiovasculares post-TH.

**Material y métodos:** se determinaron CisC (Quantikine, R&D), tasa de filtrado glomerular según la fórmula de Cockcroft-Gault (TFG), creatinina sérica (Cr) y aclaramiento de creatinina en orina de 24 h (ClCr) en 100 pacientes (81 hombres; edad media:  $56 \pm 8$  años). La función cardíaca fue valorada mediante ecocardiograma y cateterismo cardíaco.

**Resultados:** CisC se correlacionó significativamente con el MELD score ( $r = 0,340$ ,  $p = 0,001$ ). Los pacientes en Child C presentaban cifras superiores a aquellos en clase B y A, mostrando una clara tendencia a la significación (Child A =  $1.294$  ng/ml, Child B =  $1647$  ng/ml y Child C =  $1.869$  ng/ml;  $F = 3,023$ ,  $p = 0,054$ ). El valor medio de CisC fue elevado ( $1.463,8 \pm 697,6$  ng/ml). Sólo un 9% presentaban valores de Cr superiores a  $1,3$  mg/dl y un 20,5% un ClCr inferior

a 60 ml/min. CisC presentaba un área bajo la curva similar al resto de técnicas (CisC = 0,753, Cr = 0,799, TFG = 0,842, urea = 0,823;  $p < 0,001$ ). Al analizar sensibilidad (S) y especificidad (E), para un valor de corte de 1,3 mg/dL, la Cr presentaba una elevada E (96%) y una baja S (13%). CisC, para un valor de corte de 1618 ng/ml, presentaba una S del 80%, con una E del 66%. En cuanto a la función cardíaca, CisC no mostró correlación con ninguna variable del estudio hemodinámico. Se correlacionó de forma significativa con la fracción de eyección ( $r = 0,274$ ;  $p < 0,05$ ), el diámetro diastólico del ventrículo izquierdo ( $r = -0,20$ ;  $p < 0,05$ ) y la fracción de acortamiento ( $r = 0,321$ ;  $p < 0,01$ ). Los pacientes con valores de CisC superiores a 1618 ng/ml presentaron mayor número de eventos cardiovasculares, con una clara tendencia a la significación estadística ( $p = 0,08$ ).

**Conclusiones:** La cistatina presenta una mayor sensibilidad que la creatinina para el diagnóstico de insuficiencia renal en el paciente cirrótico. Por otro lado, valores elevados de cistatina C podrían relacionarse con un riesgo mayor de presentar eventos cardiovasculares después del trasplante hepático.

### CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR MEDIANTE EL PERFIL DE EXPRESIÓN DE MICROARN

C. Alsinet<sup>a</sup>, S. Toffanin<sup>b</sup>, Y. Hoshida<sup>c</sup>, J. Lu<sup>c</sup>, A. Villanueva<sup>a</sup>, D. Chiang<sup>c</sup>, B. Minguez<sup>b</sup>, P. Newell<sup>b</sup>, L. Cabellos<sup>b</sup>, S. Roayaie<sup>a</sup>, M. Schwartz<sup>b</sup>, J. Bruix<sup>a</sup>, V. Mazzaferro<sup>d</sup>, S. Friedman<sup>b</sup>, T. Golub<sup>c</sup> y J.M. Llovet<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Laboratori de Recerca Translacional en Oncologia Hepàtica. BCLC Group. Servicio de Hepatología. IDIBAPS. CIBERehd. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Mount Sinai Liver Cancer Program. Division of Liver Diseases/ Mount Sinai School of Medicine. New York. USA.

<sup>c</sup>Cancer Program. Broad Institute of Harvard and MIT. Cambridge. MA. USA.

<sup>d</sup>Istituto Nazionale dei Tumori. Fondazione IRCSS. Milan. Italia.

**Introducción:** Datos recientes evidencian la implicación de los microARN (miARN) en el desarrollo y progresión del CHC. Además, los perfiles de expresión de miARN pueden generar una clasificación molecular del CHC que tenga relevancia pronóstica.

**Objetivos:** 1) Identificar subgrupos de CHC a nivel molecular en base a la expresión de miARN. 2) Establecer una clasificación molecular del CHC integrando datos de expresión de miARN, genómicos y biológicos. 3) Identificar los mecanismos involucrados en la desregulación de miARN en CHC.

**Métodos:** La expresión de 358 miARN se evaluó en 89 muestras de tejido fresco de CHC en pacientes VHC+ mediante amplificación dependiente de ligación. Se utilizó un método de agrupación jerárquica no supervisada para identificar subgrupos moleculares. La expresión génica y las alteraciones cromosómicas se evaluaron con un microarray de expresión (Affymetrix U133 2.0<sup>®</sup>) y un array de SNP (Affymetrix STY Mapping Array<sup>®</sup>). La activación de diferentes vías de señalización se determinó por inmunohistoquímica (pAkt, pIGF-1R, pS6, pEGFR y  $\beta$ -catenina) y análisis mutacional ( $\beta$ -catenina). La validación de la expresión de miARN se realizó en tejidos parafrinados de CHC mediante PCR en tiempo real. El efecto de la desmetilación en la expresión de ciertos miARN se evaluó en la línea celular Huh-7 tratada con 5-aza-2'-deoxicitidina y ácido 4-fenilbutírico.

**Resultados:** El análisis no supervisado de los perfiles de expresión de miARN clasificó las muestras en 3 clases: la Clase A (32/89, 36%) mostró un enriquecimiento de muestras con activación de la vía de WNT ( $p < 0,001$ ), la Clase B (28/89, 32%) se caracterizó por la expresión de genes relacionados con la respuesta a IFN ( $p = 0,01$ ) y la Clase C (28/89, 31%) mostró una mayor frecuencia de activa-

ción de la vía de IGF ( $p = 0,01$ ) y Akt/mTOR ( $p = 0,02$ ). En la clase C se definieron dos subclases moleculares que mostraban sobreexpresión de dos regiones de miARN en el cromosoma 19 (8/89, 9%) y el 14 (5/89, 6%). La sobreexpresión de tres miARN del cromosoma 19 normalmente expresados en placenta (miR-517a: Sobreexpresión  $> 26$  veces,  $p < 0,001$ ; miR-520 g: sobreexpresión  $> 7$  veces,  $p < 0,001$  y miR-516b: Sobreexpresión  $> 3$  veces,  $p = 0,025$ ; respecto al tejido normal), se confirmó en la validación. El ensayo de desmetilación *in vitro* muestra la sobreexpresión del miR-517a, que tiene el mayor incremento de expresión en el grupo de muestras inicial (89) y en el de validación (165).

**Conclusión:** Los perfiles de expresión de miARN permiten, junto a los datos genómicos y biológicos, definir tres clases moleculares de CHC (WNT, inflamación y proliferación). En la clase de proliferación se identifican dos subgrupos caracterizados por sobreexpresión de miARN localizados en los cromosomas 19 y 14, como consecuencia de cambios epigenéticos. Estos resultados identifican tres miARN, como nuevas potenciales dianas terapéuticas.

### COMPARACIÓN DE LA CINÉTICA VIRAL EN LAS PRIMERAS 12 SEMANAS DE TRATAMIENTO DE TELBIVUDINA VS ENTECAVIR EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B

D. Jin Suh<sup>a</sup>, E. Herrmann<sup>b</sup>, C. Ávila<sup>c</sup>, P. López<sup>c</sup> y S. Zeuzem<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Department of Internal Medicine. Asan Medical Center. University of Ulsan.

<sup>b</sup>Faculty of Medicine. Saarland University. Hamburg. Germany.

<sup>c</sup>Novartis Farmacéutica. Basel. Switzerland.

<sup>d</sup>Department of Internal Medicine. J.W. Goethe-University Hospital. Frankfurt. Germany.

**Antecedentes:** La evolución de la respuesta viral precoz durante el tratamiento de la hepatitis crónica B (HCB) es un factor clave para entender la potencia antiviral, definir el perfil de respuesta y determinar la mejor estrategia terapéutica. Se presenta la primera comparación directa de la cinética viral de dos nuevos tratamientos de la HCB.

**Métodos:** Estudio randomizado, abierto, que evalúa la cinética viral de telbivudina (LDT) 600 mg/d vs entecavir (ETV) 0,5 mg/d durante 12 semanas de tratamiento y compara la supresión de la replicación del VHB en pacientes HBeAg positivo con HCB compensada. El objetivo principal es medir la reducción media del ADN-VHB desde el nivel basal, medido mediante el test COBAS Taqman. La cinética viral se determinó mediante ecuaciones de estimación generalizada (GEE) y modelización bifásica.

**Resultados:** 44 pacientes (pts) HBeAg positivo fueron randomizados y recibieron LDT ( $n = 23$ ) o ETV ( $n = 21$ ) durante 12 semanas. El ADN-VHB basal (media ( $\pm$  SD)) fue 10,3 ( $\pm 1,6$ ) vs. 9,7 ( $\pm 1,7$ ) log<sub>10</sub> copias/mL en los grupos LDT y ETV respectivamente. La reducción media del ADN-VHB en la semana 12 fue similar entre los tratamientos: 6,6 ( $\pm 1,6$ ) log<sub>10</sub> copias/mL en el grupo LDT y 6,5 ( $\pm 1,5$ ) log<sub>10</sub> copias/mL en el grupo ETV. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para ningún parámetro de cinética viral: aclaramiento viral/d (0,809 vs 1,002  $p = 0,314$ ), ratio de pérdida de células infectadas/d (0,075 vs 0,071  $p = 0,627$ ) o eficacia de supresión de la producción viral (0,991 vs 0,992  $p = 0,736$ ) para LDT y ETV, respectivamente.

**Conclusiones:** El tratamiento con LDT y ETV, no mostró diferencias significativas en la reducción media del ADN-VHB y la cinética viral en pacientes con HCB HBeAg positivo compensada. Tampoco hubo diferencias significativas entre los grupos para el aclaramiento del virus, la eliminación de células infectadas o la supresión de la producción viral. La cinética viral demuestra que LDT y ETV tienen la misma potencia al inhibir la replicación viral.



# DISMINUCIÓN DE LA INFILTRACIÓN DE MACRÓFAGOS AL TEJIDO HEPÁTICO Y DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN EL TEJIDO ADIPOSO EN RATONES DOBLE KNOCKOUT PARA LA APOE Y LA 5-LIPOOXIGENASA

M. Martínez-Clemente<sup>a</sup>, N. Ferré<sup>a</sup>, M. López-Parra<sup>a</sup>, R. Horrillo<sup>a</sup>, A. González-Pérez<sup>a</sup>, E. Titos<sup>a</sup>, E. Moran-Salvador<sup>a</sup>, R. Miquel<sup>b</sup>, V. Arroyo<sup>c</sup>, C. Funk<sup>d</sup> y J. Clària<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic. CIBERehd. CIBEK. IDIBAPS. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic. CIBERehd. CIBEK. IDIBAPS. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Unidad de Hígado. Hospital Clínic. CIBERehd. CIBEK. IDIBAPS. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Queen's University. Kingston. Canada.

**Introducción:** La obesidad, la resistencia a la insulina y la hiperlipidemia son condiciones que coexisten frecuentemente asociadas a la enfermedad metabólica hepática. En un estudio reciente demostramos que los ratones deficientes en apolipoproteína E (ratones ApoE<sup>-/-</sup>), un modelo experimental de hiperlipidemia, presentaban un mayor grado de esteatosis e inflamación hepática y una mayor susceptibilidad a desarrollar fibrosis hepática. Además, se observó que entre los genes diferencialmente sobreexpresados en el hígado de los ratones ApoE<sup>-/-</sup> se encontraba la vía pro-inflamatoria y pro-fibrogénica de la 5-lipooxigenasa (5-LO).

**Objetivo:** Dado que la deficiencia en 5-LO ha demostrado un efecto protector sobre el sistema cardiovascular en ratones ApoE<sup>-/-</sup>, en el presente estudio investigamos si la deficiencia en esta vía también ejerce efectos protectores en el hígado.

**Diseño estudio:** Ratones control (wt) (n = 16), ratones ApoE<sup>-/-</sup> (n = 12) y ratones doble knockout para la ApoE y la 5-LO (ApoE<sup>-/-</sup>/5-LO<sup>-/-</sup>) (n = 13) se estudiaron en condiciones basales y tras recibir una dieta rica en grasa (45% Kcal procedentes de grasa) durante 12 semanas.

**Resultados:** En comparación con el grupo control, los ratones ApoE<sup>-/-</sup> presentaron un mayor grado de necroinflamación, una mayor expresión de las citoquinas pro-inflamatorias TNF $\alpha$  y IL-18 en el tejido hepático y una respuesta alterada en el test de sensibilidad a la insulina. En comparación con el grupo ApoE<sup>-/-</sup>, los ratones doble knockout ApoE<sup>-/-</sup>/5-LO<sup>-/-</sup> presentaron una menor tinción hepática del antígeno F4/80, indicativo de una menor infiltración de macrófagos al hígado, unos menores niveles séricos de ALT y una menor expresión de TNF $\alpha$  y IL-18. Además, los hepatocitos aislados de ratones doble knockout ApoE<sup>-/-</sup>/5-LO<sup>-/-</sup> presentaron una menor vulnerabilidad a la apoptosis inducida por el TNF $\alpha$ . A nivel del tejido adiposo, los ratones doble-knockout ApoE<sup>-/-</sup>/5-LO<sup>-/-</sup> presentaron un aumento de la expresión de adiponectina, la principal adipocina hepatoprotectora y sensibilizante a la insulina, una inducción de PPAR $\gamma$ , un receptor nuclear clave en la sensibilidad a la insulina, y una menor expresión de la adipocina pro-inflamatoria MCP-1. Por último, los ratones doble-knockout ApoE<sup>-/-</sup>/5-LO<sup>-/-</sup> presentaron una mejoría en el test de tolerancia a la glucosa y una disminución de la expresión de genes involucrados en la lipogénesis hepática, incluyendo el factor de transcripción SREBP-1c y la sintasa de ácidos grasos, FASN, tras recibir una dieta rica en grasa.

**Conclusión:** Estos resultados indican que la deficiencia en 5-LO ejerce un efecto protector frente al daño hepático y la resistencia a la insulina en un modelo experimental de hiperlipidemia, lo que sugiere que la 5-LO juega un papel relevante en el desarrollo de la mayor susceptibilidad al daño hepático en la enfermedad metabólica.

# DOS AÑOS DE TRATAMIENTO CON TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATO (TDF) VS TRATAMIENTO SECUENCIAL CON ADEFOVIR DIPVOXIL (ADV) Y TDF EN PACIENTES HBeAg-POSITIVO CON HCB (ESTUDIO 103), ANÁLISIS PRELIMINAR

T. Casanovas<sup>a</sup>, E.J. Heathcote<sup>b</sup>, E. Gane<sup>c</sup>, R. de Man<sup>d</sup>, S. Chan<sup>e</sup>, W. Sievert<sup>f</sup>, S. Mauss<sup>g</sup>, P. Marcellin<sup>h</sup>, J. Sorbel<sup>i</sup>, J. Anderson<sup>j</sup>, E. Mondou<sup>k</sup>, J. Quinn<sup>l</sup> y F. Rousseau<sup>l</sup>

<sup>a</sup>CSU. Bellvitge. España.

<sup>b</sup>Toronto Western Hospital. University of Toronto. Canada.

<sup>c</sup>Middlemore Hospital. New Zealand.

<sup>d</sup>Erasmus MC. Univ. Medical Center. Netherlands.

<sup>e</sup>Dreamwork Medical Group. EEUU.

<sup>f</sup>Monash Univ. Australia.

<sup>g</sup>Center for HIV and Gastroenterology. Germany.

<sup>h</sup>Hospital Beaujon. France.

<sup>i</sup>Gilead Sciences. Durham NC.

**Introducción:** TDF es un análogo de nucleótido activo frente al virus de la hepatitis B (VHB).

**Métodos:** Estudio aleatorizado 2:1, doble ciego, que compara la actividad antiviral de TDF a dosis de 300mg/día (n = 176) vs. adefovir dipivoxil (ADV) 10mg/día (n = 90) en pacientes HCB HBeAg-positivo. Tras biopsia hepática a la semana (S) 48, cambiaron en fase abierta a TDF. A partir de la S72 los pacientes con ADN-VHB<sup>3</sup>400 copias/ml (69 UI/mL) podían ser tratados con emtricitabina (FTC)+TDF.

**Resultados:** A la S96 el 84% de los pacientes continuaban en el estudio. El análisis por intención de tratar (AIT) mostró respuesta virológica (ADN-VHB < 400c/mL) en el 77% de los tratados con TDF y en el 78% con terapia secuencial (ADV 48S-TDF 48S). El análisis por protocolo mostró respuesta virológica en el 85% y 89% de los casos respectivamente. El brazo con ADV y con ADN-VHB  $\geq$  400 c/mL a la S48 (n = 72), el cambio a TDF logró niveles de ADN-VHB indetectables (< 400 c/mL) a la S96 en el 82%, y se mantuvo en el 100% de los tratados inicialmente con ADV y ADN-VHB < 400c/mL a la S48 (n = 12) (análisis por protocolo). 28 pacientes cambiaron a FTC+TDF entre la 72 y 96S por presentar ADN-VHB  $\geq$  400 c/mL. Tras 96S, 27 pacientes (15 TDF-TDF; 12 ADV-TDF) tuvieron ADN-VHB  $\geq$  400 c/mL, con una media de 3.4 log10c/mL. De ellos 23 habían iniciado FTC+TDF antes de la S96. La seroconversión de HBeAg fue del 27% en el grupo TDF-TDF y del 22% en el grupo ADV-TDF (p = 0,31) y la pérdida de HBsAg fue del 6% en ambos grupos (10 pacientes del grupo TDF-TDF y 5 de ADV-TDF). 11 de los 15 pacientes presentaron anti-HBs. La media de ALT a la S96 fue 36 U/L, sin diferencias significativas entre los grupos. El 9% de los pacientes abandonaron el estudio entre la S48 y 96. Dos pacientes (ADV-TDF) presentaron incremento de creatinina de 0.5-mg/dL y uno requirió ajuste de dosis antes de la S96; No disminuyó el aclaramiento de creatinina < 50 mL/min.

**Conclusión:** TDF produjo una supresión viral potente y continuada durante los dos años de tratamiento con buena tolerancia en pacientes HBeAg+. Los pacientes en terapia secuencial mostraron supresión viral significativa, con respuesta en la S96 similar a la de los tratados con TDF durante dos años.

# EFFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON MELATONINA EN LA VIABILIDAD Y FUNCIÓN CELULAR DE HEPATOCITOS HUMANOS DURANTE SU AISLAMIENTO Y CRIOPRESERVACIÓN

A. Solanas<sup>a</sup>, C. Sostres<sup>b</sup>, A. Campillo<sup>b</sup>, A. Serrablo<sup>c</sup>, A. García Gil<sup>d</sup> y M.T. Serrano<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

<sup>b</sup>Aparato Digestivo. Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza. España.

<sup>c</sup>Servicio de Cirugía. Hospital Miguel Servet. Zaragoza. España.

<sup>d</sup>Servicio de Cirugía. Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza. España.

**Introducción:** El aislamiento de hepatocitos y su criopreservación son pasos críticos en el proceso de obtención de células para



el trasplante celular hepático. El estrés oxidativo causado por el aislamiento disminuye la función y aumenta la apoptosis celular. La criopreservación produce importantes daños en membranas y organelas de la célula, reduciendo considerablemente su viabilidad y función. Mejoras en ambos procesos permitiría aumentar la disponibilidad y funcionalidad de hepatocitos para el trasplante. Sustancias antioxidantes, como la melatonina, reducen el estrés oxidativo y la apoptosis celular. Su uso en el aislamiento de hepatocitos humanos o durante su criopreservación podría mejorar su viabilidad y funcionalidad.

**Objetivo:** Estudiar el efecto de la inclusión de melatonina en el aislamiento (durante la perfusión), en una incubación previa a la congelación y/o en el medio de criopreservación, sobre la viabilidad, metabolismo y funcionalidad de hepatocitos humanos aislados.

**Material y métodos:** Se realizaron 9 aislamientos de hepatocitos humanos a partir de resecciones hepáticas mediante la técnica de perfusión con collagenasa en tres pasos. En 5 aislamientos, la primera perfusión se realizó en la mitad de la muestra con melatonina (5 Mm) y en la otra mitad con el mismo medio sin melatonina. Tras el aislamiento, se determinó la viabilidad celular de cada muestra, y tras una noche en cultivo se valoró su actividad celular, mediante el test del MTT y la cuantificación de albúmina y urea. En el resto de aislamientos, la mitad de los hepatocitos una vez aislados fueron preincubados en medio con melatonina (5mM) a 4 °C una hora antes de su congelación. Posteriormente, se congelaron con y sin melatonina (5mM) y tras su descongelación se determinó su viabilidad y los mismos parámetros que en el experimento anterior.

**Resultados:** La perfusión con melatonina aumentó un 14% la viabilidad de los hepatocitos ( $p < 0,05$ ) y un 55% su actividad metabólica ( $p = 0,057$ ) (por el test MTT), aunque no modificó la secreción de albúmina y urea. La preincubación y la congelación con melatonina mejoraron un 9 y 11% respectivamente la viabilidad ( $p < 0,05$ ) de los hepatocitos tras su descongelación, sin mostrar una mejora significativa el resto de parámetros a estudio. Los hepatocitos preincubados y además criopreservados con melatonina presentaron los mayores valores en viabilidad, funcionalidad y producción de albúmina y urea, aunque dicho efecto solo resultó significativo en la viabilidad celular.

**Conclusión:** La perfusión en el aislamiento con melatonina aumenta la viabilidad y actividad metabólica de hepatocitos humanos aislados. Su preincubación y congelación con melatonina aumenta también la viabilidad de los hepatocitos tras su descongelación.

## EFFECTOS BENEFICIOSOS DE SORAFENIB EN LA CIRCULACIÓN ESPLÁCNICA, INTRAHEPÁTICA Y PORTOCOLATERAL DE RATAS CON HIPERTENSIÓN PORTAL Y CIRRÓTICAS

M. Mejías, E. García-Pras, C. Tiani, A. de Gottardi, J. Bosch y M. Fernández

*Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Ciberehd. Barcelona. España.*

**Introducción y objetivos:** La hipertensión portal es la complicación más importante de los pacientes con cirrosis hepática para la cual las terapias no son muy abundantes. Por este motivo, existe una necesidad médica de nuevas terapias efectivas para la hipertensión portal. Dado que la angiogénesis es un importante determinante de la patofisiología de la hipertensión portal, este estudio analiza los efectos de sorafenib, un potente inhibidor de las vías proangiogénicas de VEGFR-2, PDGFR- $\beta$  y RAF quinasas, en la circulación esplácnica, intrahepática y portocolateral en dos modelos experimentales de hipertensión portal: ratas con hipertensión portal prehepática y ratas con cirrosis biliar secundaria. Una aproxi-

mación de este tipo resulta necesaria para cualquier investigación translacional dirigida a definir la eficacia y la potencial aplicación clínica de nuevos elementos terapéuticos.

**Métodos:** Se indujo hipertensión portal prehepática en ratas mediante ligadura parcial de la vena porta (PPVL), e hipertensión portal intrahepática y cirrosis biliar secundaria mediante ligadura del colédoco (BDL). Se administró sorafenib o su vehículo por vía oral durante dos semanas (1 o 2 mg/kg/día), iniciándose el tratamiento una vez que la hipertensión portal ya estaba plenamente establecida (una semana tras la PPVL o dos semanas tras la BDL). El grado de colateralización portosistémica se cuantificó usando microesferas radioactivas. Se determinó la neovascularización esplácnica e intrahepática, así como la expresión de factores angiogénicos y marcadores proinflamatorios, mediante inmunohistoquímica y western blot. Las mediciones hemodinámicas se realizaron mediante flujo-metría.

**Resultados:** El tratamiento con sorafenib inhibió las vías de señalización de VEGF, PDGF y RAF en los modelos de hipertensión portal y cirrosis, traduciéndose en efectos protectores, mediante la disminución en un 80% de la neovascularización esplácnica y una atenuación marcada de la circulación hiperdinámica esplácnica. La formación de colaterales portosistémicas se redujo en un significativo 18%. En las ratas cirróticas, el tratamiento con sorafenib resultó en una reducción del 25% en la presión portal y una mejora remarcable del daño hepático, la fibrosis hepática, la inflamación y la angiogénesis. Los efectos beneficiosos de sorafenib sobre la inflamación y el daño tisular se observaron también en los órganos esplácnicos.

**Conclusiones:** Tomando en consideración las limitaciones de extrapolar los hallazgos obtenidos en estudios con animales a humanos, nuestros resultados sugieren que sorafenib podría ser una estrategia terapéutica efectiva en pacientes con hipertensión portal y cirrosis hepática.

## EFICACIA ACTUAL DEL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO EMPÍRICO EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON INFECCIONES BACTERIANAS

J. Acevedo, J. Fernández, M. Castro, O. García, C. Rodríguez de López, M. Navasa, P. Ginés y V. Arroyo

*IMDM e IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona. Ciberehd. España.*

**Introducción:** Los cambios producidos en la epidemiología de las infecciones bacterianas en la cirrosis hepática pueden haber disminuido la eficacia clínica de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

**Métodos:** Estudio prospectivo que evaluó las características clínicas y la respuesta al tratamiento antibiótico de todas las infecciones bacterianas producidas en pacientes cirróticos entre septiembre del 2005 y Septiembre del 2007.

**Resultados:** Un total de 224 pacientes presentaron 500 infecciones bacterianas en 393 ingresos. La peritonitis bacteriana espontánea (PBE,  $n = 126$  casos), las infecciones urinarias ( $n = 96$ ) y la celulitis ( $n = 66$ ) fueron las complicaciones infecciosas más frecuentes. Un tercio de las infecciones fueron nosocomiales ( $n = 175$ ). Los principales microorganismos multirresistentes aislados fueron las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro ampliado (BLEAs, 42 casos), seguidos de *Pseudomonas aeruginosa* (17 casos), *Staphylococcus aureus* MR (14 casos) y *Enterococcus faecium* (14 casos). Dichas bacterias multirresistentes fueron aisladas principalmente en infecciones nosocomiales: PBE (28 vs. 3%;  $p = 0,001$ ), infecciones urinarias (63 vs. 22%;  $p = 0,0001$ ), celulitis (36 vs. 6%;  $p = 0,04$ ) y neumonía (29 vs. 11%;  $p = ns$ ). El tratamiento antibiótico empírico (cefalosporinas de tercera generación o amoxicilina-ácido clavulánico) resolvió más frecuentemente las infecciones adquiridas en la comunidad: PBE (83 vs. 44%;  $p = 0,001$ ),

infecciones urinarias (78 vs. 34%;  $p = 0,0001$ ), celulitis (87 vs. 36%;  $p = 0,003$ ), neumonía (53 vs. 17%;  $p = 0,05$ ).

**Conclusiones:** Las bacterias multirresistentes causan frecuentemente infecciones nosocomiales en la cirrosis hepática. El tratamiento antibiótico empírico actualmente recomendado fracasa en una alta proporción de dichas infecciones por lo que debe ser modificado e incluir un carbapenem y, según el tipo de infección, un glicopéptido.

## EFICACIA CLÍNICA Y SEGURIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN DE TERLIPRESINA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON SHOCK SÉPTICO

J. Acevedo, J. Fernández, A. Escorsell, A. Mas, P. Ginès y V. Arroyo

IMDM e IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona. Ciberehd. España.

**Introducción:** La terlipresina se está empleando de manera creciente en el tratamiento del shock séptico refractario en la población general. Sin embargo, no existen datos sobre sus efectos en la cirrosis hepática.

**Objetivos:** Investigar los efectos de la administración de la terlipresina sobre la supervivencia hospitalaria en pacientes cirróticos con shock séptico.

**Métodos:** Ensayo clínico prospectivo, aleatorizado, abierto y monocéntrico comparando terlipresina (1-2 mg/4h EV) + fármacos alfa-adrenérgicos (grupo 1) vs fármacos alfa-adrenérgicos (grupo 2) en 72 pacientes cirróticos con shock séptico.

**Resultados:** Hasta el momento se han incluido 24 pacientes, 12 en cada grupo de tratamiento. Los datos clínicos al ingreso en la UCI fueron similares entre ambos grupos. Dos pacientes de cada grupo murieron durante las primeras 24 horas de ingreso en UCI (17%). La incidencia de hemorragia digestiva por hipertensión portal (0% en ambos grupos) y de insuficiencia renal grave (42% en el grupo 1 vs. 67% en el grupo 2) fue similar entre ambos grupos de tratamiento. Los pacientes que recibieron terlipresina presentaron una menor incidencia de shock refractario aunque las diferencias no fueron significativas (25 vs. 42%). La mortalidad en UCI (50% en el grupo 1 vs. 67% en el grupo 2) y la hospitalaria (50 vs. 75%, respectivamente) fueron similares entre ambos grupos de tratamiento. La incidencia de efectos adversos en relación con la administración de terlipresina fue extremadamente alta (66%), siendo la isquemia distal el efecto secundario más frecuente. Cuatro pacientes (33%) requirieron la suspensión del tratamiento con terlipresina en relación con efectos adversos graves.

**Conclusiones:** La administración de terlipresina en bolus no tiene un claro efecto beneficioso en pacientes cirróticos con shock séptico y se asocia a una alta incidencia de efectos adversos. Su administración en perfusión continua debe ser evaluada.

## EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN 2.804 PACIENTES CON HEPATITIS C

M. Rabanal, M.J. Gaspar, N. Rams, T. Casanovas, X. Forns, R. Planas, J.M. Sánchez-Tapias y R. Solà; por el Grupo Catalán de Estudio de la Hepatitis C

Consell Assessor del Tractament Farmacològic de les Hepatitis Viriques. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya.

**Introducción:** El genotipo viral y el grado de cumplimiento terapéutico son dos elementos claves en el éxito del tratamiento en pacientes con hepatitis C crónica. Este estudio analiza estos dos factores en la práctica clínica real.

**Objetivo:** Evaluar la eficacia y el grado de adherencia terapéutica de pacientes tratados en Cataluña durante el período 2001-2005.

**Métodos:** Análisis retrospectivo de los casos de hepatitis C crónica tratados en los hospitales de Cataluña durante el período 2001-2005 según la base de datos del Consell Assessor del Tractament Farmacològic de les Hepatitis Viriques de la Generalitat de Catalunya. La duración del tratamiento fue de 12 meses en pacientes infectados con genotipos 1-4 y de 6 meses en pacientes con genotipo 2-3.

**Resultados:** Se obtuvieron datos de 2804 pacientes. La media de edad en el momento del diagnóstico fue de  $43 \pm 11$  años (media  $\pm$  desviación estándar). El 66,9% eran hombres. La distribución genotípica fue del 64,1% de pacientes con genotipo 1 (1a:16,8% y 1b: 66,9%), 5,7% genotipo 2, 21,9% genotipo 3 y un 8,3% genotipo 4. La carga viral fue superior a las 800.000 UI/ml en el 43,4% de los casos. El tratamiento fue completado ( $> 80\%$  de la dosis y el tiempo prescrito) por el 73,2% en pacientes con genotipo 1 o 4 y por el 90% de los pacientes con genotipo 2 o 3 ( $p < 0,0001$ ). La respuesta viral sostenida (RVS) por ITT fue del 54,5% (genotipo 1: 44,7%, genotipo 2: 76,8%, genotipo 3: 78,4%, genotipo 4: 51,9%). La RVS fue superior en pacientes infectados con el genotipo 1b (44,5%) que en los pacientes con genotipo 1a (36,8%) aunque la diferencia no resultó ser estadísticamente significativa ( $p = 0,06$ ). La RVS se incrementó al 68,8% en aquellos pacientes que realizaron el tratamiento completo (genotipo 1: 59,8%, genotipo 2: 84%, genotipo 3: 86,2%, genotipo 4: 69,3%;  $p < 0,0001$ ).

**Conclusión:** Los resultados obtenidos en la práctica clínica real son similares a los observados en los ensayos clínicos. La adherencia al tratamiento es crucial para obtener una mejor tasa de RVS, lo que pone de manifiesto la importancia de disponer de equipos experimentados y con atención multidisciplinar en el tratamiento de la hepatitis C crónica.

## EL EFECTO CITOPROTECTOR DE N-ACETILCISTEÍNA, SOD Y COENZIMA Q FRENTE A LA MUERTE CELULAR POR SALES BILIARES SE RELACIONA CON EL INCREMENTO DE LA EXPRESIÓN DE NOS-3 EN HEPATOCITOS

S. González, A.B. Hidalgo, G. Ferrín, R. González, I. Ranchal, R.I. Bello, A. Poyato, M. de la Mata y J. Muntané

Liver Research Unit. Hospital Universitario Reina Sofía. Ciberehd. Córdoba. España.

**Introducción:** La acumulación de sales biliares hidrofóbicas induce muerte celular en hepatocitos en cultivo. La regulación del estrés oxidativo y nitrosativo celular previene la muerte celular en hepatocitos en cultivo. El objetivo del presente estudio es determinar la regulación de la producción de óxido nítrico (ON) y muerte celular por diversos agentes antioxidantes durante la muerte celular inducida por sales biliares en hepatocitos.

**Material y métodos:** Se ha realizado un estudio cinético (0-24 h) de inducción de muerte celular por ácido glicochenodeoxicolico (GCDCA) (0,5 mM) en HepG2. N-acetilcisteína (NAC, 0,5 mM), MnTBAP (Mn(III)tetrakis(4-benzoic acid) porphyrin chloride (1 mg/ml), mitoQ (1 micro M) se coadministraron con GCDCA. La concentración de calcio intracelular se reguló con EGTA o Bapta, y la de ON con un inhibidor de la óxido nítrico sintasa (NOS) (L-NAME) o un donador de ON (Nonoate). Se determinaron parámetros de muerte celular, expresión de la NOS-1, -2 y -3 por RT-PCR, Western-blot y microscopía confocal. La movilización de calcio se valoró mediante Fluo-3 en microscopía de fluorescencia.

**Resultados:** GCDCA interfirió la entrada de calcio extracelular, redujo la expresión de NOS-3 e incrementó la apoptosis y necrosis celular en HepG2. La inhibición de la producción de ON por L-NAME o el bloqueo de la entrada de calcio extracelular por EGTA incrementaron la muerte celular por GCDCA en HepG2. La adición de un donador de NO (Nonoate) o la adición de calcio ejercieron un efecto citoprotector sobre la muerte celular inducida por GCDCA. La

administración de NAC, MnTBAP y mito-Q incrementó la expresión de NOS-3 y previno la muerte celular por GCDCA.

**Conclusiones:** 1) La inducción de muerte celular por GCDCA se relaciona con una alteración de la entrada de calcio y una disminución de la expresión de NOS-3 en HepG2. 2) La adición de calcio o de donadores de NO ejerció un efecto citoprotector en hepatocitos tratados con GCDCA. 3) El efecto citoprotector de los antioxidantes (NAC, MnTBAP y MitoQ) se relaciona con un incremento de la expresión de NOS-3 en hepatocitos en cultivo.

## EL FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO (PLGF) Y SU RELACIÓN CON LOS MECANISMOS PATOGENÉTICOS DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS

J. Ribera<sup>a</sup>, S. Tugues<sup>a</sup>, M. Pauta<sup>a</sup>, A.M. Geerts<sup>b</sup>, C. van Steenkiste<sup>b</sup>, I. Colle<sup>b</sup>, P. Carmeliet<sup>c</sup>, V. Arroyo<sup>d</sup>, W. Jiménez<sup>a</sup> y M. Morales-Ruiz<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Bioquímica y Genética Molecular-CDB.

<sup>a</sup>Hepatología-IMD. Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica Esther Koplowitz (CIBEK). CIBERehd-Instituto de Salud Carlos III. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. España.

<sup>b</sup>Department of Hepatology and Gastroenterology. Ghent University Hospital. Belgium.

<sup>c</sup>Department for Transgene Technology and Gene Therapy. Leuven. Belgium.

**Introducción y objetivo:** El Plgf es un miembro de la familia del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) que desempeña una importante función fisiopatológica en procesos inflamatorios y cardiovasculares a través de la inducción de angiogénesis patológica. Estudios previos han demostrado que el avance de la fibrosis hepática se correlaciona significativamente con un incremento de la expresión de Plgf. Sin embargo, se desconoce cual es el significado fisiopatológico de este hallazgo. Por otra parte, se ha demostrado que las células estrelladas hepáticas (HSCs) expresan VEGFR-1, el receptor específico de Plgf. En este contexto, el objetivo de este estudio fue el de investigar la contribución de Plgf en los mecanismos patogénicos de las HSCs.

**Métodos:** La cirrosis fue inducida en ratas Wistar por inhalación crónica de CCl<sub>4</sub>. La abundancia de Plgf se cuantificó mediante técnicas de inmunohistoquímica (anticuerpo anti rat-Plgf, Sta Cruz) y de RT-PCR. Las HSCs fueron aisladas mediante perfusión con colagenasa (Roche) y centrifugación en gradiente de densidad (Nycodenz, Sigma). La señalización celular inducida por Plgf (100ng/ml) en una línea celular humana de HSCs activadas (LX2) se analizó utilizando un array comercial acoplado a anticuerpos anti-fosfo tirosina (Hypermatrix). La viabilidad y la migración de HSCs en respuesta al tratamiento de Plgf (100 ng/ml) se determinaron mediante un ensayo de MTT y mediante el análisis de la quimiotaxis direccional, respectivamente.

**Resultados:** La inmunodetección de Plgf se localizó principalmente en los septos fibrosos de los hígados cirróticos. En concordancia con este resultado, la expresión del ARN mensajero de Plgf fue significativamente mayor en HSCs que en resto de células hepáticas. El tratamiento de LX-2 con Plgf indujo la fosforilación de 34 proteínas relacionadas con procesos claves de señalización intracelular. El análisis bioinformático de estos resultados demostró que estas proteínas se agrupaban significativamente en dos grupos funcionales: desarrollo-viabilidad celular (ERK 1/2, CBL, IKK, PDGFRA, SOCS1, TRAF5, TRAF6, VAV1 y YES1) y cáncer-migración celular (CDK5R1, CDKN1B, Flt1, MET, MMP3, SRC, RBL1, y PI3-quinasa p85). Con el fin de obtener una validación funcional de los resultados, se realizaron estudios de viabilidad y migración celular. El tratamiento con Plgf provocó un incremento significativo de la viabilidad de las HSCs en comparación con la condición control ( $7,8 \times 10^4 \pm 1,4$

$\times 10^4$  vs  $4,2 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^4$  células/pozo, respectivamente;  $p < 0,05$ ). Además, el tratamiento de las células LX2 con Plgf estimuló significativamente la reorganización del citoesqueleto y la migración celular.

**Conclusiones:** Nuestros resultados demuestran que Plgf aumenta la viabilidad y estimula la migración celular de las HSCs. Estos datos sugieren que, en el contexto de la cirrosis hepática, los agentes angiogénicos podrían contribuir al proceso de fibrogenesis actuando sobre los mecanismos patogénicos de las HSCs.

## EL GEN DE LA GHRELINA REGULA LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN RATONES TRANSGÉNICOS Y EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

M. Moreno<sup>a</sup>, M.L. Mansego<sup>b</sup>, J.F. Chaves<sup>b</sup>, M. Domínguez<sup>a</sup>, J.Colmenero<sup>a</sup>, L.N. Ramalho<sup>a</sup>, X. Forns<sup>a</sup>, V. Arroyo<sup>a</sup>, C. Caballería<sup>a</sup>, P. Ginès<sup>a</sup> y R. Bataller<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unitat d'Hepatologia. Hospital Clínic. CIBEREHD. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS).

Barcelona. España.

<sup>b</sup>Fundación de Investigación. Laboratorio de Estudios Genéticos. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. España.

**Introducción y objetivo:** La ghrelina es una hormona orexigénica producida en el estómago. Puede ser sintetizada en otros tejidos donde regula diversos procesos fisiopatológicos. Nuestro laboratorio ha demostrado que la ghrelina se sintetiza en el hígado y que su administración exógena tiene un efecto hepatoprotector y antifibrogénico. Objetivo: Investigar si la expresión endógena del gen de la ghrelina regula la fibrogenesis experimental y humana.

**Métodos:** Se incluyó a pacientes a los que se realizó una biopsia hepática (45 con hepatitis crónica C, 23 con esteatohepatitis no alcohólica y 37 con hepatopatía alcohólica) y 5 pacientes control. Se estudió la expresión hepática del gen de la ghrelina y 40 genes involucrados en fibrogenesis (PCR cuantitativa). Se analizó los niveles séricos de ghrelina en individuos control ( $n = 34$ ), con hepatitis crónica C ( $n = 73$ ) y hepatitis alcohólica ( $n = 25$ ) mediante radioinmunoanálisis. Asimismo, se estudió 6 polimorfismos del gen de la ghrelina mediante miniselección en 384 pacientes con hepatitis crónica C. Se estudió la respuesta fibrogénica hepática en ratones C57/BL6 salvajes y knockout para el gen de la ghrelina tras la administración intraperitoneal de tetracloruro de carbono durante 8 semanas ( $n = 12$  por grupo).

**Resultados:** La expresión hepática de ghrelina fue similar en pacientes con hepatopatía alcohólica, VHC y en hígados normales. Los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica presentaron mayor expresión de ghrelina (3,5 veces más que en hígados normales,  $p < 0,05$ ). La expresión de ghrelina se correlacionó con genes profibrogénicos como TIMP1, MMP2 y TGFβ1. Los niveles séricos de ghrelina fueron menores en pacientes con hepatopatía crónica que en individuos control ( $p < 0,05$ ). Entre los pacientes, los niveles séricos de ghrelina fueron significativamente menores en aquellos con fibrosis avanzada (750 pg/ml vs 948 pg/ml). En el estudio de polimorfismos genéticos, se identificó dos polimorfismos (-994CT y -604GA) en el gen de la ghrelina que se asociaban con estadio más avanzado de la fibrosis en mujeres. En el estudio con ratones, se demostró que los ratones deficientes en ghrelina eran más susceptibles a la fibrosis hepática y al daño necroinflamatorio que los ratones salvajes (si-rius red, score necroinflamatorio).

**Conclusiones:** La ghrelina endógena regula la progresión de la fibrosis hepática humana y experimental. La administración de ghrelina es un posible tratamiento antifibrogénico que debe ser evaluado en futuros estudios clínicos.

## EL INTERFERÓN ALFA2B RECOMBINANTE MEJORA LA RESPUESTA INMUNE DE LA VACUNA CONTRA LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON BAJA RESPUESTA: RESULTADOS FINALES DE UN ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO

M.E. Miquilena Colina<sup>a</sup>, T. Lozano Rodríguez<sup>a</sup>, L. García Pozo<sup>a</sup>, A. Sáez Sáez<sup>a</sup>, P. Rizza<sup>b</sup>, I. Capone<sup>b</sup>, M. Rapicetta<sup>b</sup>, P. Chionne<sup>b</sup>, M. Capobianchi<sup>c</sup>, M. Selleri<sup>c</sup>, F. Belardelli<sup>b</sup>, O. Lo Iacono<sup>d</sup> y C. García Monzón<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Hepatología Experimental. Hospital Universitario Santa Cristina. CIBERehd. Madrid. España.

<sup>b</sup>Departamento de Biología Celular y Neurociencias. Instituto Superior de Sanidad. Roma. Italia.

<sup>c</sup>Laboratorio de Virología. Instituto Nacional de Enfermedades Infeciosas L. Spallanzani. Roma. Italia.

<sup>d</sup>Sección de Aparato Digestivo. Hospital del Tajo. Aranjuez. Madrid. España.

**Introducción:** El interferón (IFN) alfa es una citoquina capaz de estimular la respuesta inmune humoral y celular, lo que sugiere que podría ser útil como adyuvante de la vacuna anti-hepatitis B (HB) en pacientes con baja respuesta.

**Objetivo:** Determinar cuantitativa y cualitativamente si el IFN alfa mejora la respuesta inmune de la vacuna anti-HB en pacientes en hemodiálisis no vacunados previamente.

**Pacientes y métodos:** Se incluyó a 64 pacientes que fueron vacunados de manera aleatoria con cuatro dosis (0, 1, 2 y 6 meses) de 40 mcg de vacuna recombinante anti-HB (grupo A: 34 pacientes, 58,5 ± 12,9 años) o con la misma pauta de vacunación más 3 MUI de IFN alfa2b recombinante (grupo B: 30 pacientes, 60,3 ± 9,7 años). Como variables de eficacia, se analizaron la tasa de seroprotección (anti-HBs ≥ 10 UI/L), los diferentes isotipos de IgG anti-HBs y las subpoblaciones linfocitarias Th1 y Th2 basalmente (T0), 1 mes después de la 3.<sup>a</sup> (T3) y 4.<sup>a</sup> (T7) dosis, y 6 meses después de completar la vacunación (T12). Se analizaron también las subpoblaciones linfocitarias Th1 y Th2 en la sangre periférica de 28 individuos sanos (57,2 ± 10,5 años). Como variable de seguridad, se evaluaron los efectos adversos (EAs), tanto clínicos como analíticos, 1 mes después de cada dosis.

**Resultados:** La tasa de seroprotección precoz (T3) fue del 38,2% en el grupo A y del 73,3% en el grupo B (p = 0,005), siendo la tasa de seroprotección en T7 del 62% en el grupo A y del 84,6% en el grupo B (p = 0,061). El isotipo IgG anti-HBs predominante en los pacientes que alcanzaron un título de anti-HBs ≥ 10 UI/L fue IgG4 en los del grupo A e IgG1 en los del grupo B. La proporción de linfocitos circulantes Th1, pero no la de Th2, estaba anormalmente elevada en ambos grupos antes de la vacunación (grupo A: 20,3 ± 10,2%, grupo B: 21,9 ± 14,1%, individuos sanos: 11,6 ± 4,7%; p < 0,001 y p = 0,001, respectivamente). Considerando los pacientes que lograron una seroprotección precoz, la proporción de linfocitos circulantes Th1 se normalizó en los del grupo B (13,2 ± 8,2 vs 11,6 ± 4,7% en individuos sanos, p = 0,405), mientras que permaneció anormalmente elevada en los del grupo A (19,9 ± 14,3% vs 11,6 ± 4,7%, p = 0,009). Ninguno de los pacientes del grupo A presentó EAs relacionados con la vacuna, mientras que el 83,3% de los pacientes del grupo B presentó algún EA, siendo el más frecuente la fiebre de intensidad leve o moderada en las siguientes 24 horas de la vacunación. Ninguno de los 64 pacientes presentó EAs graves.

**Conclusión:** El uso de IFN alfa2b recombinante como adyuvante de la vacuna anti-HB en pacientes en hemodiálisis es seguro y produce un aumento significativo en la tasa de seroprotección precoz induciendo una respuesta inmune eficaz de tipo Th1. Estos resultados sugieren que estrategias similares podrían ser útiles para otros grupos de pacientes con alto riesgo de HB y baja respuesta a la vacuna, como los cirróticos y los receptores de trasplante hepático.

## EL MEDICAMENTO HEPATOPROTECTOR SILIBININA INHIBE LA RESPIRACIÓN MITOCONDRIAL Y AUMENTA EL RENDIMIENTO Y EFICACIA DE LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA EN MITOCONDRIAS AISLADAS DE HÍGADOS DE RATAS «IN VITRO» Y «EX-VIVO»

M.N. Sanz<sup>a</sup>, C. Sánchez-Martín<sup>a</sup>, D. Detaille<sup>a</sup>, J.M. Recio-Córdova<sup>b</sup>, M.V. Rascón-Trincado<sup>c</sup>, E.A. Koceir<sup>d</sup>, F. Alonso<sup>a</sup> y M.Y. El-Mir<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Fisiología Animal y Farmacología. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

<sup>b</sup>Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. España.

<sup>c</sup>Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

<sup>d</sup>Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes. Faculté des Sciences Biologiques. Argel. Argelia.

**Antecedentes:** La Silibinina (SB), principal flavonoide de la sili-marina, se utiliza actualmente en clínica gracias a sus efectos hepatoprotectores (*Legalon*). Estudios previos realizados por nuestro grupo demostraron la capacidad de la SB de inhibir «in vitro» la gluconeogénesis y glucólisis en hepatocitos.

**Objetivos:** Investigar, tanto «in vitro» como «ex-vivo», el efecto de la SB sobre la respiración mitocondrial y sobre el rendimiento de la fosforilación oxidativa en mitocondrias hepáticas.

**Métodos:** Utilizamos tres grupos experimentales de ratas Wistar macho. Para los experimentos «in vivo» inyectamos durante 2 semanas SB (50 mg/kg/día, i.p.) o su vehículo. En los experimentos «in vitro» se utilizaron ratas control sin tratamiento previo. Obtuvimos las mitocondrias hepáticas por centrifugación diferencial. Las medidas de la respiración y de la fosforilación oxidativa se realizaron, en presencia o ausencia de SB (100 µM), en una cámara de oxigrafía cerrada, con agitación magnética y termostatzada a 37 °C, y equipada con un electrodo «de Clark». Como sustratos respiratorios utilizamos: glutamato/malato (GM), succinato/malato/rotenona (SM), glutamato/succinato/malato (GSM) y palmitoil carnitina coenzima A.

**Resultados:** La SB inhibió la respiración mitocondrial, tanto «in vitro» como «in vivo». En ambas situaciones experimentales, la SB no afectó al estado 4, pero sí inhibió significativamente la respiración en el estado 3 con los dos sustratos empleados. La mayor inhibición de la respiración fue del 38% en experimentos «in vitro» con GM, respecto al 18% de inhibición obtenido «ex vivo». Con SM obtuvimos un porcentaje de inhibición similar «in vitro» e «in vivo», 22% y 18%, respectivamente. Por el contrario, la SB aumentó el P/O tanto «in vitro» como «in vivo», aunque de forma más acusada «in vivo». En los experimentos «in vitro», la SB incrementó la fosforilación oxidativa un 16% con GM, 10% con SM y GSM y 22% con palmitoil coenzima A. El porcentaje de activación ejercido por la SB «in vivo» fue del 26% con SM, 23% con GM y 24% con GSM.

**Conclusión:** La SB ejerce acciones mitocondriales «in vitro» e «in vivo». Estos efectos adquieren especial relevancia en situaciones patológicas con disfunción mitocondrial como la Diabetes.

## EL MELD Y EL MELD SODIO VARÍAN SINIFICATIVAMENTE DEPENDIENDO DEL LABORATORIO EN QUE SE DETERMINAN

X. Xiol<sup>a</sup>, L. Castells<sup>b</sup>, P. Gines<sup>c</sup>, J. Twose<sup>d</sup>, A. Ribaltá<sup>d</sup>, J. Castellote<sup>a</sup>, I. Bilbao<sup>b</sup>, M. Navasa<sup>c</sup> y R. Deulofeu<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Hospital Universitari de Bellvitge. Idibell. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Hospital Universitari Vall d'Hebron. CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (ciberehd). Barcelona. España.

<sup>c</sup>Hospital Clínic (IDIBAPS). CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (ciberehd). Barcelona. España.

<sup>d</sup>Organització Catalana de Trasplantament (OCATT). Barcelona. España.

**Introducción:** El MELD se utiliza en la priorización de los pacientes en lista de espera de trasplante hepático ya que las variables

	Laboratorio A	Laboratorio B	Laboratorio C	p
Creatinina	1,23	1,2	1,21	0,001
rango	0,5-5,10	0,53-5,47	0,64-5,09	
Bilirrubina	2,96	3,28	3,11	0,001
rango	0,4-19,9	0,35-23,05	0,43-20,67	
INR	1,4	1,52	1,67	0,001
rango	0,88-2,73	0,89-3,03	0,68-5,83	
Sodio	138,9	135,2	134,5	0,001
rango	123-145	121-142	120-140	
MELD	14,3	15,1	15,9	0,001
rango	jun-29	jun-31	jun-40	
MELD-Na	15,6	17,1	18,1	0,001
rango	jun-42	jun-50	jun-59	

que lo forman son objetivas, y reproducibles. Sin embargo, la cifra de MELD puede estar influenciada por los métodos de laboratorio utilizados y la incorporación de la cifra de sodio en el MELD (MELD-Na) puede mejorar su capacidad pronóstica.

**Material y métodos:** Para implementar un sistema de distribución de órganos basado en el MELD en un área con tres hospitales con programa de trasplante, se ha estudiado si hay variaciones en el MELD y el MELD-Na determinado en los distintos hospitales. Todos los pacientes en lista de espera se estudiaron el mismo día practicándoles una extracción de sangre que se dividió en tres alícuotas que se analizaron en cada laboratorio. Los métodos de laboratorio fueron los mismos en los tres centros para la determinación de creatinina y sodio y distintos en los tres para la de INR y bilirrubina. El MELD se calculó con la modificación UNOS y el MELD-Na: MELD + 1,59 (135-Na).

**Resultados:** La puntuación de MELD y MELD-Na fue idéntica en los tres centros en sólo 6 y 9 de los 70 casos, respectivamente. La puntuación de MELD obtenida en los laboratorios A y C mostró la máxima diferencia: en 22 casos fue de un punto y en 38 de dos o más puntos; la diferencia de MELD-Na fue en 22 casos de un punto y en 33 mayor de dos. Las medias y rango de cada variable se muestran en la tabla adjunta.

**Conclusiones:** Existieron diferencias significativas en la puntuación MELD y MELD-Na obtenida en los tres laboratorios. En dos de los centros, el MELD difería en dos puntos o más en el 54% de los casos, y el MELD-Na en el 47%. Aunque había diferencias significativas en los tres parámetros del MELD, el INR es el que produce más variaciones. Para garantizar una distribución de órganos equitativa basada en el sistema MELD o en el MELD-Na, se deberían implementar los mismos métodos de laboratorio en los centros de las áreas que comparten órganos, o incluso debería considerarse la utilización de un laboratorio central.

#### EL PEROXINITRITO INHIBE LA ACTIVIDAD DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL (CRM) Y REPRODUCE LAS ALTERACIONES FUNCIONALES HALLADAS EN LOS RATONES OB/OB CON ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (EHNA)

I. García-Ruiz, D. Fernández-Moreira, C. Rodríguez-Juan, T. Díaz-Sanjuán, M.T. Muñoz-Yagüe, P. Solís-Muñoz y J.A. Solís-Herruzo  
Centro de Investigación. Hospital «12 de Octubre».  
Universidad Complutense. Madrid. España.

**Introducción:** En un estudio previo, mostramos que la actividad de la CRM está disminuida en el hígado de pacientes con EHNA (Hepatology 2003;38:999-1007) y en ratones obesos ob/ob (Hepatology 2006;44:581-591). Más recientemente hemos demostrado

que la baja actividad enzimática hallada en los ratones ob/ob se debía a un descenso en las proteínas que forman estos complejos (57th Annual Meeting. AASLD. 2007).

**Objetivos:** Considerando que el tratamiento de los ratones ob/ob con ácido úrico —un captador del anión peroxinitrito— mejora la actividad de la CRM, quisimos saber si este anión puede reproducir «in vitro» las alteraciones funcionales mitocondriales existentes en los animales obesos.

**Material y métodos:** Cincuenta a 2.800 mmoles de peroxinitrito fueron añadidos a 5 mg/ml de mitocondrias aisladas del hígado de ratones normales, delgados. Tras esta exposición, determinamos en las proteínas modificadas por el peroxinitrito: actividad de la CRM (espectrofotometría), actividad en gel del complejo I, consumo de oxígeno y grado de ensamblaje del complejo I y sus subunidades.

**Resultados:** la exposición de las proteínas mitocondriales al anión peroxinitrito produce: 1) un descenso dependiente de la dosis de la actividad del complejo I (determinada por espectrofotometría y en gel) y de la citrato sintetasa; 2) reducción del consumo de oxígeno que era también dependiente dosis; 3) disminución de los complejos de la CRM completamente ensamblados; 4) descenso de todas las subunidades estudiadas de los complejos I y III, así como de la pro-hibitina, y, finalmente, y 5) degradación de la subunidad 39 kDa del complejo I y de la subunidad core 2 y FeS del complejo III.

**Conclusión:** Este estudio demuestra que el tratamiento «in vitro» de mitocondrias de ratones normales con dosis crecientes de peroxinitrito reproduce las alteraciones funcionales y proteómicas que se encuentran en los ratones obesos con EHNA. Es decir, disminuye su actividad enzimática tras provocar su rápida degradación de las proteínas que componen los complejos de la CRM. Estos resultados apoyan la idea de que el anión peroxinitrito juega un papel crítico en la patogenia de la disfunción mitocondrial existente en la EHNA. Estos hallazgos pueden contribuir al hallazgo de nuevos tratamiento para estas lesiones.

#### EL POLIMORFISMO 1331T>C EN LA BOMBA EXPORTADORA DE SALES BILIARES ES UN FACTOR DE SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO HEPATOCELULAR INDUCIDO POR FÁRMACOS

R.J. Andrade<sup>a</sup>, E. Crespo<sup>b</sup>, E. Ulzurrun<sup>c</sup>, F. Ruiz-Cabello<sup>d</sup>, Y. Borraz<sup>e</sup>, M. Robles<sup>a</sup>, M.C. Fernandez<sup>e</sup>, G. Pelaez<sup>e</sup>, A. Madrazo<sup>f</sup>, M. Romero-Gomez<sup>g</sup>, S. Ávila<sup>h</sup>, H. Hachem<sup>h</sup>, J.M. Navarro<sup>i</sup>, R. Planas<sup>j</sup>, J.F. Salmerón<sup>k</sup>, C. Guarnier<sup>l</sup> y M.I. Lucena<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Virgen de la Victoria. Facultad de Medicina. Málaga. España. CIBERehd.

<sup>b</sup>Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Granada. España.

<sup>c</sup>Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Virgen de la Victoria. Facultad de Medicina. Málaga. España.

<sup>d</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Laboratorio de Inmunología. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. España.

<sup>e</sup>Servicio de Farmacología y Aparato Digestivo. Hospital Torrecárdenas. Almería. España.

<sup>f</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

<sup>g</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Xeral-Calde. Lugo. España.

<sup>h</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Morales Messeguer. Murcia. España.

<sup>i</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Costa del Sol. Marbella. Málaga. España.

<sup>j</sup>Unidad de Hepatología y Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

<sup>k</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

<sup>l</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Sant Pau. Barcelona. España.

**Objetivos:** Una disminución en la expresión de los transportadores hepáticos canaliculares podría contribuir a la exposición del hepatocito a concentraciones elevadas del metabolito reactivo.

Polimorfismos genéticos de la bomba exportadora de sales biliares (BSEP, ABCB11) y proteínas resistentes a multidrogas (MRP2, ABCC2) podrían conducir a un cambio en la función y expresión de dichos transportadores, aumentando la susceptibilidad al desarrollo de hepatotoxicidad idiosincrásica.

**Material y métodos:** Se genotiparon los polimorfismos de BSEP (ABCB11 1331T > C (V444A)) y MRP2 (ABCC2 -24C > T, 4581G > A (C1515Y), 3563 T > A (V1188E) y 1249 G > A (Val417Le)) en pacientes con toxicidad hepática inducida por fármacos pertenecientes al Registro Nacional de Hepatotoxicidad (Andrade et al., Gastroenterology 2005) con una causalidad definida o probable según la escala de CIOMS. El grupo control estuvo constituido por sujetos Caucásicos emparejados por edad, sexo y tipo de fármaco al que habían sido expuestos. El genotipado se realizó mediante un ensayo de discriminación alélicas 5' con sondas TaqMan.

**Resultados:** En la tabla se muestran las frecuencias genotípicas de ABCB11 y ABCC2 en los pacientes con hepatotoxicidad y controles. La frecuencia del genotipo variante de ABCB11 1331T > C fue mayor en pacientes con lesión hepatotóxica del tipo hepatocelular respecto al grupo control. Los genotipos de ABCC2 C-24T, G1249A, G4581A y T3563A fueron similares entre pacientes y controles.

**Conclusiones:** Nuestros datos sugieren que el polimorfismo ABCB11 1331T > C podría ser un factor de susceptibilidad al desarrollo de daño hepático inducido por fármacos de tipo hepatocelular. Sin embargo, los polimorfismos estudiados de ABCC2 no parecen estar implicados en la susceptibilidad a desarrollar DILI.

Proyecto parcialmente financiado por el SAS PI-0082/2007 y por la Agencia Española del Medicamento

#### EL TRATAMIENTO CON N-ACETILCISTEÍNA Y UN ANÁLOGO DE SOD ESTABILIZA LA EXPRESIÓN Y LA ACTIVIDAD DE LOS COMPLEJOS MITOCONDRIALES Y PREVIENE LA MUERTE CELULAR EN HEPATOCITOS HUMANOS EN CULTIVO

R. González<sup>a</sup>, A.B. Hidalgo<sup>a</sup>, G. Ferrín<sup>a</sup>, I. Ranchal<sup>a</sup>, S. González<sup>a</sup>, R.I. Bello<sup>a</sup>, P. López-Cillero<sup>b</sup>, G. Costán<sup>a</sup>, M.A. Gómez<sup>c</sup>, G. López-Lluch<sup>d</sup>, M. Santos-González<sup>e</sup>, J. Briceño<sup>b</sup>, Rufán<sup>b</sup>, J.M. Villalba<sup>e</sup>, P. Navas<sup>d</sup>, M. de la Mata<sup>a</sup> y J. Muntané<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Liver Research Unit. Córdoba. España.

<sup>b</sup>Departamento de Cirugía. Hospital Reina Sofía. Córdoba. España.

<sup>c</sup>Unidad Cirugía HBP-THO. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. España.

<sup>d</sup>CABD. Universidad Pablo Olavide. Sevilla. España.

<sup>e</sup>Departamento de Biología Celular. Fisiología e Inmunología. Universidad de Córdoba. Córdoba. España.

**Introducción:** La N-acetilcisteína (NAC) y un análogo de la superóxido dismutasa (MnTBAP) reducen el estrés oxidativo y muerte celular en diversos modelos experimentales. La muerte celular por D-galactosamina (D-GalN) se relaciona con disfunción mitocondrial y estrés oxidativo en hepatocitos.

**Objetivos:** El estudio investiga los mecanismos intracelulares de prevención por NAC y SOD de la muerte celular en hepatocitos.

**Material y métodos:** Los hepatocitos se aislaron de biopsias hepáticas obtenidas de pacientes sometidos a resección hepática. NAC (0,5 mM) y MnTBAP (Mn(III)tetrakis(4-benzoic acid) porphyrin chloride (1 mg/ml), se co-administraron con D-GalN (40 mM) en hepatocitos humanos en cultivo. Se determinaron parámetros de muerte celular, así como el estrés oxidativo, coenzima Q (Q), GSH, la actividad y la expresión de diversos complejos mitocondriales.

**Resultados:** La muerte celular por D-GalN se asoció con la inducción del estrés oxidativo, oxidación de Q, depleción de GSH y reducción de la actividad de los complejos I+III y II+III mitocondriales. NAC y MnTBAP redujeron la muerte celular, previnieron la oxidación de Q, redujeron el estrés oxidativo mitocondrial y restauraron

la expresión proteica de diversas subunidades y la actividad de los complejos I+III y II+III en mitocondrias.

**Conclusión:** 1) La depleción en Q mitocondrial es clave en la disfunción mitocondrial y muerte celular por D-GalN. 2) El efecto beneficioso de NAC se relaciona con la prevención de la oxidación de Q, estabilización de la función mitocondrial y prevención de muerte celular.

#### EL TRATAMIENTO CON VASOCONSTRICTORES EN EL SÍNDROME HEPATORRENAL TIPO-1 SECUNDARIO A PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA MEJORA SIGNIFICATIVAMENTE LA FUNCIÓN RENAL Y AUMENTA LA SUPERVIVENCIA

M. Rivero, M.A. Rodríguez-Gandía, G. Arranz, X. García-Aguilera, V.F. Moreira, J.M. Milicia y L. Ruiz del Árbol

Unidad de Hemodinámica del Servicio de Gastroenterología, Hospital Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

**Introducción:** El tratamiento del Síndrome Hepatorrenal tipo-1 (SHR) con vasoconstrictores y albúmina es eficaz en aproximadamente el 40% de los pacientes. El SHR ocurre también durante infecciones bacterianas activas (IBA), fundamentalmente, peritonitis bacteriana espontánea (PBE). Previamente, los estudios terapéuticos no han incluido a los pacientes con SHR e IBA hasta después de la curación de la infección. Actualmente, el SHR tipo-1 incluye pacientes con IBA pero sin shock séptico, sin embargo, la eficacia del tratamiento en estos enfermos no ha sido evaluada en estudios controlados.

**Objetivos:** Determinar la eficacia del tratamiento vasoconstrictor en pacientes con SHR tipo-1 secundario a peritonitis bacteriana espontánea (SHR-PBE), estimada por mejoría de la función renal y la supervivencia.

**Material y métodos:** Estudio prospectivo, comparativo en pacientes con cirrosis hepática y SHR tipo-1 sin IBA (SHRsinIBA) (n = 21) y con SHR-PBE (n = 20) los cuales recibieron tratamiento combinado con terlipresina (1-2 mg/4 h iv) y albúmina (1 g/kg seguido de 20-40 g/día) durante un máximo de 15 días. Se determinó en condiciones basales y al final del tratamiento, parámetros de función renal y hepática, la actividad plasmática de renina, aldosterona y noradrenalina. La mejoría de la función renal se definió por disminución de la creatinina sérica inicial hasta < 1,5 mg/dl (respuesta completa).

**Resultados:** Basalmente, ambos grupos de enfermos fueron similares en la función renal. Los pacientes del SHR-PBE tenían un significativo deterioro de la función circulatoria manifestado por menor presión arterial media (70 vs. 75 mmHg; p < 0,05) y gran activación de los sistemas vasoactivos (p < 0,05) en comparación al grupo SHRsinIBA. Por el contrario, el grupo SHRsinIBA presentaba mayor grado de insuficiencia hepática en comparación al grupo SHR-PBE (MELD 34 ± 7 vs. 26 ± 7 puntos; respectivamente, p < 0,001). La respuesta completa en la función renal ocurrió en 15 (68%) pacientes en el grupo SHR-PBE en comparación con 7 (32%) enfermos del grupo SHRsinIBA (p = 0,007). Los factores predictivos independientes de respuesta completa fueron la bilirrubina sérica, noradrenalina plasmática y el desencadenante del SHR. La supervivencia a los 60 días fue estadísticamente significativa entre los grupos (SHR-PBE: 55% vs SHRsinIBA 24%; p < 0,05). La respuesta completa de la función renal se asoció a una supervivencia más prolongada (supervivencia mediana 147 días vs 13 días en pacientes con y sin respuesta completa, respectivamente; p < 0,001). No hubo diferencias significativas entre los dos grupos con respecto a la frecuencia de efectos adversos.

**Conclusión.** La administración de terlipresina y albúmina revierte en una elevada proporción el SHR en pacientes con cirrosis hepática y PBE. La respuesta completa de la función renal se asocia a un aumento de la supervivencia.

## EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN INMIGRANTES DE ÁFRICA SUB-SAHARIANA

M. Bottecchia, A. Madejón, P. Rivas, S. Puente, M.D. Herrero, J. García-Samaniego y V. Soriano

*Servicios de Enfermedades Infecciosas y Hepatología. Hospital Carlos III. CIBEREHD. Madrid. España.*

**Introducción:** El intenso flujo de población inmigrante procedente de diferentes regiones de África hacia España puede suponer el aumento de la incidencia de determinadas infecciones. La prevalencia de infección por el virus de la hepatitis B (VHB) en las regiones sub-saharianas se sitúa en torno al 8%-10%. Por otro lado, la composición genotípica del VHB en los países africanos es diferente de la existente en España. Por este motivo, el objetivo de este estudio fue investigar la epidemiología molecular de los inmigrantes sub-saharianos con infección crónica por el VHB en un centro de referencia en Madrid.

**Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo en 1705 inmigrantes de África sub-sahariana (1.295 [76%] procedentes de Guinea Ecuatorial, 1.129 [66,2%] varones, edad media  $35,6 \pm 11,6$  años) atendidos en un hospital de referencia en Madrid. La serología del VHB se determinó mediante una técnica comercial de EIA (BioRad). La cuantificación del ADN-VHB se realizó en los pacientes HBsAg-positivos con muestras de plasma disponibles mediante un ensayo comercial de PCR en tiempo real (Abbott, límite de detección: 10 UI/ml). La identificación de los genotipos del VHB se realizó mediante secuenciación de la región codificante de la polimerasa del VHB con un procedimiento comercial (Trugene, Siemens), y un análisis filogenético posterior.

**Resultados:** Ciento diecisiete (6,86%) pacientes tenían HBsAg-positivo y no habían recibido nunca tratamiento para la hepatitis B. El ADN-VHB fue positivo en 27 (51,9%) de los 52 pacientes con muestras de plasma disponibles (20 [74%] varones, 18 [67%] procedentes de Guinea Ecuatorial y 23 [85%] HBeAg-negativo). La cifra media de carga viral fue de  $0,03 \times 10^3$  UI/ml. Cinco pacientes (18,5%) presentaron coinfección por VIH, 3 (11%) anticuerpos frente al virus de la hepatitis delta (VHD) y un paciente presentaba coinfección por VIH y VHD. La distribución de los genotipos del VHB fue la siguiente: A: 19 (A1:5 y A3:14), E:6 y D:2.

**Conclusiones:** Estos resultados evidencian una tasa de detección del ADN-VHB relativamente baja en los inmigrantes procedentes de África sub-sahariana, donde la mayoría pueden considerarse portadores inactivos. Por otro lado, se ha observado una elevada incidencia de infección por el subtipo A3, poco frecuente en España.

## ESTUDIO DE DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS Y VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS DELTA EN PACIENTES ESPAÑOLES, CON Y SIN INFECCIÓN POR VIH

A. Madejón, M. Bottecchia, B. Rodés, M. Sánchez-Carrillo, M. Romero, J. García-Samaniego y V. Soriano

*Servicios de Enfermedades Infecciosas y Hepatología. CIBEREHD. Hospital Carlos III. Madrid. España.*

**Introducción:** La complejidad de las cuasiespecies virales y la composición genotípica son factores importantes que afectan a la evolución de la enfermedad hepática crónica en pacientes con hepatitis crónica B y C. Sin embargo, no existen datos concluyentes acerca de la variabilidad genética del virus de la hepatitis delta (VHD) en pacientes con hepatitis crónica por VHD (HCD).

**Pacientes y métodos:** Se incluyeron muestras retrospectivas de suero de 16 pacientes con HCD y ARN-VHD positivo (7 coinfectados por VIH). Las vías de transmisión en los pacientes sin infección por VIH fueron drogadicción parenteral en 5 (56%) pacientes y contacto sexual en 4 (44%). Todos los pacientes VIH-positivos se infectaron

por el VHD a través de prácticas de drogadicción. En todas las muestras se amplificó un fragmento del genoma del VHD de 576 bases que contenía las regiones autocatalíticas y la región codificante de los últimos 90 aminoácidos del antígeno delta. Los amplificados se analizaron mediante secuenciación directa (DNA sequencing kit, Applied Biosystems). Finalmente se realizó un análisis filogenético con el paquete de programas SeqMan que incluyó secuencias tipo de los 7 genotipos descritos del VHD.

**Resultados:** Todas las muestras analizadas correspondían al genotipo I del VHD. El análisis filogenético demostró la existencia de dos grupos de secuencias con una composición diferencial de secuencias procedentes de pacientes VIH positivos y negativos. Así, 6/7 (85%) de las secuencias del VHD de pacientes VIH-positivos se agrupaban en la primera rama constituyendo el 60% (6/10) de las secuencias. Por el contrario, la segunda rama estaba mayoritariamente compuesta por secuencias del VHD procedentes de pacientes VIH-negativos (4/5: 80%). La distancia evolutiva entre las secuencias de ambos grupos fue diferente: la primera rama que contenía un mayor porcentaje de secuencias de pacientes con infección por VIH fue más homogénea (distancia media + DE:  $0,051 + 0,027$  vs  $0,081 + 0,123$ ). El análisis filogenético a nivel de aminoácidos mostró el mismo patrón de división de secuencias en dos grupos obtenido en el análisis de nucleótidos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de secuencias en las cifras de carga viral B y delta, si bien los títulos de ARN-VHD tendieron a ser mayores en las muestras de los pacientes VIH positivos (media + DE:  $4,7 \times 10^7$  vs  $1,4 \times 10^7$ ;  $p = NS$ ).

**Conclusiones:** El genotipo I del VHD es la variante predominante en pacientes españoles con HCD. La población de secuencias circulantes del VHD en pacientes VIH-positivos parece ser más homogénea que en pacientes sin infección por VIHOSPITAL. Aunque estas diferencias podrían explicarse por las distintas vías de transmisión en ambos grupos de pacientes, no se puede descartar la existencia de procesos de selección positiva de determinadas variantes del VHD en pacientes infectados por VIHOSPITAL.

## ESTUDIO DE LA GLUTAMINASA DEPENDIENTE DE FOSFATO POR BLUE-NATIVE PAGE: UNA APROXIMACIÓN PROTEÓMICA

M.M. Díaz-Herrero<sup>a,b</sup>, M. Jover<sup>b</sup>, M. Romero-Gómez<sup>b</sup> y J. Bautista<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Departamento de Bioquímica, Bromatología, Toxicología y M.L. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.*

<sup>b</sup>*UGCED-CIBEREhd. Hospital Universitario Valme. Sevilla. España.*

**Introducción:** La glutaminasa activada por fosfato (PAG; E.C. 3.5.1.2) es la principal enzima responsable de la hidrólisis de glutamina a glutamato y amonio. Existen dos isoenzimas: K-PAG, presente en riñón, músculo e intestino y la isoenzima L-PAG, presente principalmente en hígado y cerebro. La enzima puede encontrarse como dímero inactivo y/o como tetrámero o polímero activo. La forma dimérica es soluble en la matriz mitocondrial, mientras que el tetrámero activo está unido a la cara externa de la membrana mitocondrial interna.

**Objetivos:** Identificar la proteína PAG mediante una técnica basada en la Blue-Native PAGE (BN-PAGE) y MS, que nos permita identificar y cuantificar simultáneamente las formas activas e inactivas de la PAG en diferentes tejidos.

**Materiales:** Se han utilizado extractos mitocondriales hígado, cerebro, riñón e intestino delgado.

**Blue-Native PAGE:** de acuerdo con el procedimiento descrito por Schägger y revisado por Reisinger, permite la separación de complejos multiproteicos en su forma nativa con una alta resolución.

**Espectrometría de masas:** las bandas seleccionadas se han sometido a digestión triptica in gel y se analizarán por espectrometría de masas (fingerprinting) mediante la técnica de MALDI-TOF.



**Resultados:** En la figura 1 se muestra la separación de extractos mitocondriales de riñón, intestino y cortex de rata; y en la figura-2 se muestra la identificación de la K-PAG mediante técnicas de inmunoblotting. La banda detectada presenta un tamaño de unos 400 kDa, lo que corresponde a una estructura hexamérica.

**Conclusiones:** La BN-PAGE nos permite detectar y cuantificar simultáneamente la PAG mediante técnicas de MS.

**Agradecimientos:** FIS PI040384 y PI070425.

## ESTUDIO OBSERVACIONAL, PROSPECTIVO DE SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN ALFA 2A PEGILADO ASOCIADO A RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA GENOTIPO 1 CON NIVELES NORMALES DE ALT. ANÁLISIS INTERMEDIO DE EFICACIA

J.L. Calleja<sup>a</sup>, B. Ruiz-Antorán<sup>a</sup>, J. García-Samaniego<sup>b</sup>, R. Morillas<sup>c</sup>, R. Moreno<sup>d</sup>, J.C. Erdozáin<sup>e</sup>, R. Martín-Vivaldi<sup>f</sup>, D. Suarez<sup>g</sup>, L. Grande Santamaría<sup>h</sup>, R. Solá<sup>i</sup>, F. Baños<sup>j</sup>, M. Miras<sup>k</sup>, M.A. Álvarez<sup>l</sup>, A. Castro<sup>m</sup>, M. Jiménez Pérez<sup>n</sup>, M. Vergara Gómez<sup>o</sup>, B. Peñas<sup>a</sup>, L. Bonet<sup>p</sup>, J. Salmerón<sup>q</sup>, M. Moreno<sup>r</sup>, F. Jorquera<sup>s</sup> y J. de la Revilla<sup>a</sup>; por el Grupo Español para el Manejo de la Infección por VHC y Transaminasas Normales

<sup>a</sup>Hospital Puerta de Hierro. Majadahonda. Madrid. España.

<sup>b</sup>Hospital Carlos III. Madrid. España.

<sup>c</sup>Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Hospital La Princesa. Madrid. España.

<sup>e</sup>Hospital la Paz. Madrid. España.

<sup>f</sup>Hospital Virgen de las Nieves. España.

<sup>g</sup>Hospital Arquitecto Marcade. España.

<sup>h</sup>Hospital de Valme. Sevilla. España.

<sup>i</sup>Hospital del Mar. Barcelona. España.

<sup>j</sup>Consorci Sanitari Integral de L'Hospitalet. Barcelona. España.

<sup>k</sup>Hospital Virgen Arrixaca. Murcia. España.

<sup>l</sup>Hospital Altafia de Manresa. Barcelona. España.

<sup>m</sup>Hospital Juan Canalejo. La Coruña. España.

<sup>n</sup>Hospital Regional Carlos Haya. Málaga. España.

<sup>o</sup>Hospital Parc Tauli. Barcelona. España.

<sup>p</sup>Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. España.

<sup>q</sup>Hospital San Cecilio. España.

<sup>r</sup>Hospital General de Fuerteventura. España.

<sup>s</sup>Hospital de León. León. España.

**Introducción:** Del 25 al 46% de los pacientes con hepatitis C crónica tienen niveles de transaminasas normales. El estudio que permitió avalar el tratamiento de estos pacientes con transaminasas normales utilizó dosis de ribavirina de 800 mg/día. Sin embargo la dosis actual recomendada es de 1.000-1.200 para genotipos 1. Por ello se considera útil confirmar los resultados del estudio, en condiciones de práctica clínica habitual con las dosis estándar de ribavirina.

**Objetivos:** Evaluar la respuesta al tratamiento con Peginterferón alfa-2a asociado a ribavirina a dosis estándar (1.000-1.200 mg/día) en la erradicación del virus C en genotipo 1. En este análisis intermedio se ha evaluado la respuesta virológica rápida (RVR: ARN-VHC < 50 IU/ml en la semana 4), la respuesta virológica precoz (RVP: ARN-VHC negativo o disminución  $\geq 2$  log en la semana 12 de tratamiento), y la respuesta virológica sostenida (RVS: persistencia de la respuesta completa en las 24 semanas post tratamiento).

**Métodos:** Estudio multicéntrico, observacional, prospectivo de seguimiento del tratamiento con interferón alfa-2a pegilado asociado a ribavirina. Se han incluido pacientes de ambos sexos con edades comprendidas entre los 18 y los 70 años, con evidencia de infección por VHC genotipo 1 y con cifras de ALT normales (< 40 UI/ml) durante al menos 2 ocasiones en los últimos 12 meses.

**Resultados:** Se han incluido para este análisis intermedio un total de 98 pacientes (31 varones, 67 mujeres). Un 74% de los pacientes incluidos presentaba cargas virales basales  $\geq 600.000$  IU/ml,

con una carga viral media de 8.241.833 IU/ml ( $\pm 42.156.310$  IU/ml). La respuesta viral rápida (RVR) fue del 22,6%. La tasa de RVR fue significativamente mayor en pacientes con carga viral baja (47,1 vs 13,3%) ( $p < 0,05$ ). La tasa de pacientes con respuesta viral precoz (RVP) ha sido de 93,3% sin observarse diferencias significativas entre los pacientes con carga viral alta y baja. La tasa de respuesta viral sostenida (RVS) fue del 71,7%. El subgrupo de pacientes con carga viral inicial alta ( $\geq 600.000$  IU/ml), presento una RVS 69,7 vs 83,3% del grupo con carga viral baja, sin diferencias estadísticamente significativas.

**Conclusiones:** 1) En pacientes con infección crónica por virus C y ALT normal el tratamiento con Peginterferon alfa 2.ª y Ribavirina consigue una tasa de RVS del 71,7% en el análisis intermedio. 2) Esta tasa de RVS, conseguida con dosis estándar de Ribavirina, es superior a la publicada en los estudios de registro con dosis bajas de Ribavirina.

## ESTUDIO PROSPECTIVO ALEATORIZADO DE TERAPIA ANTIVIRAL POST-TRASPLANTE: EFECTO DEL TIPO DE IFN-PEGILADO E INMUNOSUPRESIÓN DE BASE

C. Ortiz<sup>a,f</sup>, F.X. López-Labrador<sup>c,d,e</sup>, R. Cañada<sup>a,f</sup>, B. Riscalde<sup>a,f</sup>, V. Aguilera<sup>b,f</sup>, M. Prieto<sup>b,f</sup> y M. Berenguer<sup>b,f</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Inmunidad Experimental. Hospital la Fe. Valencia. España.

<sup>b</sup>Servicio de Medicina Digestiva. Hospital la Fe. Valencia. España.

<sup>c</sup>CSISP. Servicio de Salud Pública. Generalitat Valenciana. Valencia. España.

<sup>d</sup>Unidad de Genética Evolutiva. Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biología Evolutiva. Universitat de Valencia. Valencia. España.

<sup>e</sup>CIBER-ESP (Centro de Investigación Biomédica en Red en Epidemiología y Salud Pública). Madrid. España.

<sup>f</sup>CIBER-EHD (Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Hepáticas y Digestivas). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

**Introducción:** La terapia antiviral post-trasplante de hígado (TH) posee una eficacia limitada. Es interesante determinar los factores asociados con la repuesta virológica sostenida (RVS).

**Objetivo:** Determinar si la cinética de respuesta viral en receptores de TH tratados con pegIFN-ribavirina cambia en función de la inmunosupresión de base (tacrolimus-Tac vs ciclosporina-CsA) y tipo de IFN (pegintron vs pegasis).

**Métodos:** Estudio prospectivo aleatorizado iniciado en 2006 y actualmente en curso, de pacientes sometidos a TH aleatorizados a recibir pegintron vs pegasis en combinación con ribavirina. En 16 pacientes de TH (Tac-pegasis, n = 4, Tac-pegintron, n = 4; CsA-pegasis, n = 4; CsA-pegintron, n = 4) y en 4 inmunocompetentes (2 Pegintron and 2 Pegasis) se realizó un detallado estudio cinético.

**Resultados:** De 65 pacientes aleatorizados durante 2006-2007, se dispone del seguimiento completo (6 meses postratamiento) de 25 pacientes (pegasis, n = 13; pegintron, n = 12); 21 hombres, con una mediana de edad de 58 años (rango: 39-69). La inmunosupresión de base consistió de Tac en 17 y CsA en 8. La RVS total (24%) no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (pegasis 31% vs pegintron 17%,  $p = 0,6$ ). La RVS no presentó diferencias en función de la inmunosupresión de base (tacrolimus: 29% vs ciclosporina: 13%;  $p = 0,6$ ). Las únicas variables asociadas con la RVS fueron la viremia basal ( $p = 0,05$ ) y la respuesta virológica rápida ( $p = 0,006$ ). No se observaron diferencias en el descenso de la carga viral al día 1, semana 1, mes 1 y mes 3 en los 4 grupos. Se observa una tendencia hacia un descenso más pronunciado de la carga viral en los 3 puntos temporales en los 4 pacientes inmunocompetentes comparados con los 16 de THOSPITAL

**Conclusiones:** En la hepatitis C recurrente, no hay diferencias en la cinética viral temprana entre el IFN pegilado alfa-2a y 2b a pesar de la diferente inmunosupresión basal (Tac vs CsA).

## EVALUACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL CLÍNICAMENTE SIGNIFICATIVA MEDIANTE ELASTOGRAFÍA HEPÁTICA

L. Gómez-Escolar<sup>a</sup>, J.M. Palazón<sup>a</sup>, J. Portilla<sup>b</sup>, E. Alcaraz<sup>c</sup>, M. Niveiro<sup>c</sup>, F. de España<sup>d</sup> y M. Pérez-Mateo<sup>e</sup>

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

<sup>b</sup>Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. España.

<sup>c</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. España.

<sup>d</sup>Unidad de Radiología Vascular. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. España.

<sup>e</sup>Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. España.

**Introducción:** El gradiente de hipertensión portal (GPVH) es un marcador pronóstico en los pacientes con cirrosis hepática. Un GPVH  $\geq 10$  mmHg predice el desarrollo de complicaciones de la cirrosis, incluso la muerte. La medición del GPVH se realiza mediante el estudio hemodinámico hepático. La elastografía hepática (EH) es un método no invasivo que, mediante la determinación de la rigidez hepática, es capaz de detectar la presencia de la fibrosis hepática.

**Objetivos:** El objetivo principal del estudio es la evaluación de la hipertensión portal clínicamente significativa mediante la EHOSPITAL. Los objetivos secundarios son determinar la relación entre el GPVH y los parámetros de clasificación histológica, especialmente en el subgrupo de pacientes con virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

**Material y métodos:** 29 pacientes con enfermedad hepática crónica de diversa etiología provenientes de la Unidad de Hepatología o de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Alicante, a los cuales se les realiza una medición del GPVH junto con una biopsia transyugular y la elastografía hepática.

**Resultados:** El GPVH  $\geq 10$  mmHg está presente en 25 pacientes y presenta una correlación con la elastografía hepática  $r = 0,713$  con  $p < 0,0001$ . El área bajo la curva COR es de 0,94 (0,82-1,06). Con un punto de corte para la predicción de hipertensión portal significativa de 17,15 Kpa, se obtiene una S 96% y VPP 79%. Existen 4 parámetros histológicos relacionados de manera independiente con la hipertensión portal clínicamente significativa, medida mediante EH: el engrosamiento septal, la nodularidad mixta, la pérdida de los espacios porta y la pérdida de venas centrolobulillares, con  $p < 0,0001$ . La hipertensión portal clínicamente significativa, medida por GPVH, se relaciona de manera independiente con la nodularidad mixta y la pérdida de espacios porta, con  $p < 0,0001$ . Los pacientes con infección VIH presentan con mayor frecuencia hipertensión portal significativa. (100 versus 81%,  $p < 0,05$ ).

**Conclusión:** La elastografía hepática representa un método no invasivo para la identificación de hipertensión portal clínicamente significativa. Existen parámetros histológicos que se relacionan de manera independiente con la presencia de hipertensión portal.

## EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE CARCINOMA HEPATOCELULAR (HCC) INDUCIDO POR HEPADNAVIRUS CON UN VECTOR BASADO EN EL VIRUS DEL BOSQUE DE SEMLIKI (SFV) QUE EXPRESA IL-12 EN UN MODELO DE MARMOTA

J.R. Rodríguez-Madoz<sup>a</sup>, S.D. Butler<sup>b</sup>, J.I. Quetglas<sup>a</sup>, M. Ruiz-Guillén<sup>a</sup>, I. Otano<sup>a</sup>, J. Crettaz<sup>a</sup>, K. Hospital Liu<sup>b</sup>, I.A. Tochkov<sup>b</sup>, C.A. Bellezza<sup>b</sup>, N.L. Dykes<sup>b</sup>, B.C. Tennant<sup>b</sup>, J. Prieto<sup>a</sup>, G. González-Aseguinolaza<sup>a</sup>, C. Smerdou<sup>a</sup> y S. Menne<sup>b</sup>

<sup>a</sup>División de Terapia Génica y Hepatología. Facultad de Medicina. Centro para la Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

<sup>b</sup>Gastrointestinal Unit. Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine. Room C-2005 Cornell University. Ithaca. New York. USA.

La infección de marmotas con el virus de la hepatitis de la marmota (Woodchuck Hepatitis virus, WHV) es un modelo de mamífero bien caracterizado para estudiar la patogénesis producida por el virus de la hepatitis B (HBV), y también para evaluar en un estadio preclínico las vacunas y drogas generadas para prevenir las secuelas derivadas de la hepatitis B. Los hepatocarcinomas inducidos por el WHV se caracterizan por su heterogeneidad, por presentar una tasa lenta de crecimiento y un tamaño similar al observado en pacientes humanos con HCC inducido por el HBV. Todo esto hace que este sea un buen modelo en el cual realizar los estudios preclínicos de terapia génica antitumoral. Los vectores basados en el SFV que expresan elevados niveles de IL12 (SFV-enh-IL12) han demostrado ya poseer una potente actividad antitumoral en roedores de pequeño tamaño. En este trabajo, en primer lugar evaluamos la capacidad infectiva de vectores basados en SFV en marmotas que habían progresado a un estadio terminal de HCC. Para ello, se inyectaron intratumoralmente  $3 \times 10^9$  partículas virales (pv) de SFV expresando luciferasa o IL12, lo que resultó en una elevada expresión de luciferasa en los tumores y en la detección de IL12 en suero, respectivamente. Posteriormente, determinamos la eficacia antitumoral de estos vectores inyectando intratumoralmente en marmotas una única dosis de  $3 \times 10^9$  pv ( $n = 2$ ),  $6 \times 10^9$  pv ( $n = 2$ ) de SFV-enh-IL12, o suero salino como placebo ( $n = 4$ ). En tres de las cuatro (75%) marmotas tratadas con el vector SFV-enh-IL12, se observó una regresión parcial de los tumores durante las cuatro primeras semanas de tratamiento, tras las cuales los tumores recuperaron su tamaño original. En este trabajo también se discutirán los efectos que tiene la inoculación de SFV-enh-IL12 sobre la carga viral y antigénica, así como sobre la inducción de respuesta celulares frente al WHV.

## EVOLUCIÓN DE LA ACTIVACIÓN SISTÉMICA DEL SISTEMA INMUNE-INFLAMATORIO EN CIRROSIS EXPERIMENTAL: RELACIÓN CON LA INFLAMACIÓN EN GANGLIO LINFÁTICO MESENTÉRICO (GM) Y HEPÁTICO (GH)

M. Úbeda<sup>a,b</sup>, L. Muñoz<sup>a,b</sup>, M.J. Borrero<sup>a,b</sup>, M. Lario<sup>a,b</sup>, R. Francés<sup>b,c</sup>, L. Lledó<sup>a</sup>, J. Monserrat<sup>a,b</sup>, E. Sanz<sup>a</sup>, A. de la Hera<sup>a,b</sup>, J. Such<sup>b,c</sup>, M. Álvarez-Mon<sup>a,b,d</sup> y A. Albillos<sup>a,b,e</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

<sup>b</sup>Ciberhed.

<sup>c</sup>Hospital General. Alicante. España.

<sup>d</sup>Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. España.

<sup>e</sup>Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

**Introducción:** La activación sistémica del sistema inmune-inflamatorio es clave en la evolución de la cirrosis (cir). A su patogenia contribuye la recirculación de células inmunes activadas en GM por traslocación bacteriana intestinal (TB). Se desconoce la secuencia

Th-CD134 <sup>+</sup> (%)	Sangre	GM	GH
Control	2,6 ± 1	6,3 ± 2	5,8 ± 1
C compensada	9,1 ± 4*	11,1 ± 3 *	14 ± 5*
C descompensada	13,7 ± 6*‡	16 ± 2*‡	20,2 ± 6*‡

p < 0,05 \* vs. control, ‡ vs. compensada

de esta activación en la evolución de la cir, y la contribución de otros territorios del sistema inmune, como GHOSPITAL **Objetivos:** Investigar en cir experimental compensada (sin ascitis) y descompensada (con ascitis) la: 1) secuencia de activación del sistema inmune en la circulación sistémica, GM y GH; 2) contribución de diferentes compartimentos a la activación sistémica, y 3) relación con TB.

**Método:** Análisis por citometría de flujo de células T cooperadoras (Th) y monocitos de sangre periférica, GM y GH, en ratas cir por CCL<sub>4</sub>, sin (n = 8) y con ascitis (n = 9), y controles (n = 7).

**Resultados:** Las ratas con cir compensada presentan activación del sistema inmune, expresada por aumento de células T cooperadoras (Th) recientemente activadas (Th-CD134<sup>+</sup>), Th efectora no terminada y monocitos en sangre, GM y GHOSPITAL Estas poblaciones aumentan en los mismos compartimentos en cir descompensada, pero el grado de activación es mayor. Existe correlación directa (p < 0,05) entre el % de células Th-CD134<sup>+</sup> de sangre y el del GH (r = 0,59) en cir compensada, y el del GM (r = 0,80) en descompensada. Existió TBI a GM, definida por cultivo convencional, en 33% de ratas con cir descompensada, y en ninguna compensada. Se identificó DNA bacteriano en GM en 60 y 100% de ratas con cir compensada y descompensada. La decontaminación intestinal con antibióticos atenuó la activación inmune de GM en ratas con cir compensada y descompensada, pero sólo disminuyó la inflamación sistémica en esta última.

**Conclusión:** La activación sistémica del sistema inmune se inicia en cir compensada y su intensidad aumenta al progresar la enfermedad. Se debe a recirculación de células inmunitarias activadas en GH en cir compensada y en GM en descompensada. La TB estimula precozmente una respuesta inflamatoria en GM.

#### FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON EL DESARROLLO DE DIABETES MELLITUS DE NOVO EN PACIENTES INMUNOSUPRIMIDOS CON TACROLIMUS

L. González-Diéguez, V. Cadahía, P. Alonso, M.G. Mayor, L. Rodrigo y M. Rodríguez

Unidad de Hepatología. Servicio de Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

**Introducción:** El desarrollo de diabetes mellitus de novo (DMDN) tras el trasplante hepático incrementa las complicaciones cardiovasculares. Hasta el momento, no se han realizado estudios en grupos homogéneos de pacientes trasplantados utilizando los criterios de la ADA.

**Objetivo:** Determinar la prevalencia de DMDN al año del trasplante en pacientes inmunosuprimidos con tacrolimus e identificar posibles factores de riesgo.

**Pacientes y métodos:** Se utilizaron los criterios de la ADA para el diagnóstico de DMDN (glucemia basal en ayunas  $\geq 126$  mg/dl) y de glucemia anormal en ayunas (glucemia 100-125 mg/dl). Se incluyó a 100 pacientes sin diabetes, sometidos a un primer trasplante, seguidos al menos durante un año y que recibieron tacro+esteroides (retirada de esteroides al 3.º mes para los trasplantados por cirrosis vírica y entre el 3-6.º mes para el resto). Etiología de la enfermedad: alcohol (45%), VHC (35%) y otras (20%). Se analizaron las si-

guientes variables preTHO: glucemia basal, edad, sexo, antecedente familiar de DM, infección VHC, IMC, cociente TG/HDL-colesterol (como índice indirecto de resistencia a la insulina) y posTHO: IMC al primer año, nivel de tacro a 3, 6 y 12 meses, inmunosupresión con MMF y dosis de esteroides.

**Resultados:** Al año, el 27% tenían una DMDN. La prevalencia de DMDN fue del 42% en cirrosis VHC, 22% cirrosis alcohol y 10% otras. La existencia de DMDN no se asoció con edad, sexo, IMC ni cociente TG/HDL-colesterol. La glucemia pretrasplante fue menor en los pacientes que no desarrollaron diabetes frente a los que sí ( $92,1 \pm 11,8$  vs  $98,3 \pm 11,1$ ; p = 0,02). Los pacientes con glucemia anormal en ayunas no presentaron mayor riesgo de DM (39 vs 22%; p = 0,1), pero una glucemia  $>95$  mg/dl si se asoció con DMDN (37 vs 18%; p = 0,04). La prevalencia de DMDN al año fue más frecuente en pacientes con antecedentes familiares de DM (52 vs 20%; p = 0,009) y en pacientes con infección por VHC (43 vs. 17%; p = 0,009). En el análisis multivariado sólo el antecedente familiar de DM y la infección VHC se asociaron a mayor riesgo de DMDN (p = 0,01; p = 0,03). Al año del trasplante tenían DMDN el 13% de los pacientes sin ninguno de los 2 factores de riesgo, el 36% de los que tenían 1 y el 66% de los que tenían ambos. La dosis total de corticoides fue inferior en los que hicieron DMDN que en los que no lo hicieron ( $1.850 \pm 749$  vs.  $2.709 \pm 1.968$  mg; p = 0,03), y no hubo diferencias significativas en los niveles de tacro ni en la proporción de pacientes a los que se añadió MMF.

**Conclusiones:** Una cuarta parte de los trasplantados tratados con tacrolimus desarrollan DMDN. Dos variables sencillas, el antecedente familiar de diabetes y la infección por VHC, permiten estratificar a los pacientes antes del trasplante en grupos de diferente riesgo para el desarrollo de DMDN. El conocimiento de estos factores puede permitir la adopción de medidas que disminuyan este riesgo

#### FACTORES PREDICTIVOS DE MORTALIDAD HOSPITALARIA EN PACIENTES CIRRÓTICOS QUE PRECISAN INGRESO EN UNIDADES DE CUIDADOS CRÍTICOS

A. Huerta Madrigal, M.V. Catalina Rodríguez, M. Senosiain Labiano, D. Rincón Rodríguez, C. Ripoll Noiseaux, M. Salcedo Plaza, A. Matilla Peña, G. Clemente Ricote y R. Bañares Cañazares

Servicio de Aparato Digestivo. Hepatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

**Introducción:** La descompensación grave en pacientes cirróticos es un fenómeno frecuente y con alta mortalidad que motiva la necesidad de cuidados críticos. No existen criterios pronósticos claramente definidos en esta población que pudieran permitir la adopción de medidas agresivas de tratamiento como técnicas de soporte hepático artificial o por el contrario, la limitación del esfuerzo terapéutico.

**Objetivo:** Analizar los factores predictivos de mortalidad hospitalaria (MH) detectados precozmente en pacientes cirróticos agudamente descompensados que ingresan en una Unidad de cuidados críticos (UCC).

**Pacientes y método:** Análisis prospectivo de pacientes (n = 111) que requirieron ingreso en UCC entre septiembre de 2007 y agosto de 2008. Se evaluaron durante las primeras 24 horas del ingreso variables demográficas (edad, sexo), de la enfermedad hepática (grado de Child-Pugh, puntuación MELD, ascitis y encefalopatía hepática), motivo de ingreso en UCC, disfunción renal (clasificación RIFLE) y escalas de deterioro multiorgánico (SOFA, OSF). La variable resultado fue la MHOSPITAL Se utilizó un análisis de regresión logística jerarquizado para identificar las variables con valor predictivo independiente, construyéndose un modelo predictivo. La capacidad predictiva del modelo fue analizada mediante el análisis de las curvas ROC, realizándose posteriormente un análisis comparativo de las curvas ROC de diferentes escalas pronósticas.

**Resultados:** Durante el ingreso hospitalario fallecieron 38 pacientes (34,2%), 32 (84%) en el ingreso en UCC. La causa más frecuente de ingreso en UCC fueron la hemorragia digestiva ( $n = 40$ ; 36%) y la sepsis grave ( $n = 40$ ; 36%). En las primeras 24 horas 41 pacientes (36,9%) requirieron ventilación mecánica y 32 (28,8%) soporte inotrópico. En el análisis univariado, la edad, la necesidad de soporte inotrópico, la presencia de ascitis, la puntuación OSF, el motivo de ingreso en UCC, la presencia de encefalopatía hepática, la puntuación MELD y la categoría RIFLE se asociaron a la MHOSPITAL. El análisis de regresión logística multivariante identificó como variables independientes de MH la presencia de ascitis (OR: 45,8; IC 95% 5,2-403,7), la categoría RIFLE (OR 2,5; IC 95% 1,2-5,2) y la puntuación OSF (OR 6,0; IC 95% 2,6-14,2), con una adecuada capacidad predictiva (área bajo la curva ROC: 0,91; IC 95% 0,84-0,96). La capacidad predictiva del modelo fue superior a la de la puntuación MELD (0,83, IC 95% 0,74-0,89;  $p = 0,046$ ), a la de la puntuación SOFA (0,81, IC 95% 0,73-0,88;  $p = 0,014$ ) y a la de la puntuación de Child-Pugh (0,76, IC 95% 0,67-0,84;  $p = 0,001$ ).

**Conclusiones:** La presencia de ascitis, la disfunción renal y el fallo de varios órganos a las 24 horas del ingreso en UCC permiten identificar a los pacientes cirróticos con mayor riesgo de mortalidad hospitalaria. La identificación de estas variables en los pacientes cirróticos que requieren ingreso en UCC podría contribuir a la toma de decisiones terapéuticas en este grupo de pacientes.

### FIBROSIS HEPÁTICA Y CÉLULAS T REGULADORAS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C, CON Y SIN COINFECCIÓN POR VIH

N.I. Rallón<sup>a</sup>, M. López<sup>a</sup>, J. García-Samaniego<sup>b</sup>, V. Soriano<sup>a</sup>, P. Labarga<sup>a</sup>, P. Barreiro<sup>a</sup>, M. Romero<sup>b</sup>, A. Madejón<sup>b</sup> y J.M. Benito<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Madrid. España.

<sup>b</sup>Hepatology. CIBEREHD. Hospital Carlos III. Madrid. España.

**Introducción:** La coinfección por VIH acelera la progresión de la hepatitis crónica por virus C (VHC). El papel de las células T reguladoras (Treg) en el desarrollo de inflamación y fibrosis hepáticas no es bien conocido. En este estudio se analizó la correlación entre los niveles de transaminasas (AST y ALT) y GGT, la gravedad de la fibrosis hepática y el nivel de las células Treg en pacientes VIH-positivos y VIH-negativos con hepatitis crónica C.

**Métodos:** Se incluyó a 70 individuos: 20 controles sanos, 20 VHC+/VIH- y 30 VHC+/VIH+ que no habían recibido tratamiento para la hepatitis C. Las células Treg se definieron como células CD4+ T que expresaban Foxp3+ y se analizaron en sangre periférica por citometría de flujo. El estadio de fibrosis hepática se determinó por elastometría de transición (FibroScan<sup>®</sup>) y la fibrosis avanzada se definió con una puntuación por encima de 9,5 KPa. Las diferencias entre los grupos y la existencia de asociación entre los distintos parámetros se analizaron con tests no paramétricos.

**Resultados:** Los pacientes VHC+/VIH+ presentaron niveles más elevados de ARN-VHC en el suero y un porcentaje de linfocitos CD4 significativamente mayor que los pacientes VHC-/VIH+. La mediana [rango intercuartil] del recuento de linfocitos CD4 en los pacientes coinfectados fue de 426 [420] cels/ml y el 79% recibían tratamiento antirretroviral con niveles indetectables de ARN-VIH en plasma. Las células Treg aumentaron significativamente en los pacientes coinfectados en comparación con los controles sanos y los pacientes VHC+/VIH- (test de Kruskal-Wallis,  $p = 0,002$ ) y se correlacionaron inversamente con el porcentaje de CD4 ( $\rho$  de Spearman =  $-0,52$ ;  $p < 0,0001$ ). Los pacientes VHC+/VIH+ presentaron un estadio de fibrosis avanzada (F3/F4) en mayor proporción que los mono-infectados por VHC (46 vs 27%). Las cifras de AST/ALT y el porcentaje de pacientes con elevación de transaminasas fueron similares en ambos grupos. Por el contrario, la cifra de GGT fue significativamente mayor en los pacientes coinfectados. No se ob-

servó ninguna correlación entre cifra de transaminasas y nivel de células Treg. Con respecto al estadio de fibrosis, tampoco se observaron diferencias en función de la edad, cifra de ARN-VHC o porcentaje de CD4. Sin embargo, las células Treg aumentaron en los pacientes con fibrosis hepática avanzada en comparación con los que presentaban  $F \leq 2$  (2,6% [4,5] vs. 1,4% [1,8], respectivamente,  $p = 0,1$ ). En el análisis de regresión logística ni la infección por VIH ni el porcentaje de CD4 se asociaron de modo independiente con los niveles de células Treg y sólo se observó una tendencia entre niveles de Treg y estadio de fibrosis ( $R = 0,3$ ,  $p = 0,06$ ).

**Conclusiones:** El nivel de células Treg aumenta significativamente en pacientes VHC+/VIH+ y en los que presentan estadios avanzados de fibrosis. Estos resultados sugieren que las células Treg pueden jugar un papel en la historia natural de la coinfección VHC/VIHOSPITAL.

### HETEROGENEIDAD CELULAR EN LA EXPRESIÓN DE TRANSPORTADORES DE VITAMINA C (SVCT1 Y SVCT2) EN EL PARÉNQUIMA HEPÁTICO NORMAL Y PATOLÓGICO

E. Herráez, R.I.R. Macías, C. Hierro, M.J. Monte, F. Jiménez, F. González San-Martín y J.J.G. Marín

Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Hospital Clínico. Universidad de Salamanca. CIBEREHD. Salamanca. España.

**Introducción:** Entre los principales mecanismos de defensa celular frente al estrés oxidativo se encuentra la inactivación de radicales libres por el ácido ascórbico o vitamina C. La disponibilidad de vitamina C dependen de la entrada a las células de este anión orgánico, lo que requiere de sistemas específicos de transporte. Recientemente se han identificado las proteínas «sodium-dependent vitamin C cotransporter-1» (SVCT1) y SVCT2, que llevan a cabo la captación de vitamina C mediante cotransporte con sodio.

**Objetivo:** Localizar las isoformas de SVCT en las distintas poblaciones de células hepáticas e investigar la evolución ontogénica de su expresión en el hígado de rata y los cambios de expresión en hepatopatías que se acompañan de estrés oxidativo.

**Métodos:** Los niveles de expresión se analizaron mediante RT-PCR cuantitativa a tiempo real y Western blot y la distribución tisular por inmunohistoquímica acoplada a microscopía confocal. Las muestras humanas procedían de restos de biopsias realizadas con fines diagnósticos o quirúrgicos. Las distintas situaciones patológicas se catalogaron por las pruebas diagnósticas apropiadas en cada caso y el análisis bioquímico del suero.

**Resultados:** En hígado de rata se detectaron las dos isoformas, siendo los niveles de expresión del ARNm de Svct1 mayores que los de Svct2. La expresión de Svct1 era baja en neonatos de rata y disminuyó durante la senescencia comparada con la edad adulta. La de Svct2 se mantuvo constante desde el nacimiento hasta la senescencia.

La expresión de Svct1 era detectable en hepatocitos, células ductulares, endoteliales y de Kupffer. Svct2 se detectó sobre todo en células endoteliales y de Kupffer. No se encontraron cambios en la expresión hepática de ambas isoformas en ratas con diabetes (inducida por estreptozotocina) ni obesas (Zucker), mientras que la colestasis por ligadura del conducto biliar disminuyó la expresión de Svct1 y aumentó la de Svct2, aunque se mantuvo la distribución celular característica de la expresión de ambas isoformas en el parénquima hepático. En biopsias hepáticas de pacientes con colestasis hepatocelular, cirrosis biliar primaria, ASH/NASH, y hemocromatosis se encontró una sobreexpresión de SVCT1 y SVCT2.

**Conclusión:** El aumento de expresión de transportadores de vitamina C, sobre todo SVCT2, puede constituir un mecanismo de defensa frente a la elevación en la producción de radicales libres asociada a ciertas hepatopatías que se acompañan de estrés oxidativo.

## HIPERTENSIÓN PORTAL IDIOPÁTICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH). UNA CAUSA POCO RECONOCIDA DE HIPERTENSIÓN PORTAL

J.C. García-Pagán<sup>a,d</sup>, P.E. Chang<sup>a</sup>, R. Miquel<sup>b</sup>, J.L. Blanco<sup>c</sup>, M. Laguno<sup>c</sup>, M. Bruguera<sup>d</sup>, J.G. Abraldes<sup>a,d</sup> y J. Bosch<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup>Hepatic Hemodynamic Laboratory. Liver Unit. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servei d'Anatomia Patològica. Centre de Diagnòstic Biomèdic (CDB). Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Infectious Diseases Unit. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd).

La introducción de nuevos tratamientos antiretrovirales ha cambiado la historia natural de la infección por VIHOSPITAL. Como consecuencia de ello, las enfermedades hepáticas, y específicamente las complicaciones de la hipertensión portal por coinfección por el VHB o VHC están adquiriendo una especial relevancia.

Reportamos una serie de 8 pacientes con VIH, identificados en nuestra base de datos de pacientes con hipertensión portal no cirrótica, que tras un análisis exhaustivo se diagnosticaron de hipertensión portal idiopática (HPI). Describimos sus características clínicas, hemodinámica hepática y sistémica, elastografía hepática, cambios histológicos y pronóstico a corto y medio plazo.

Cuatro pacientes eran mujeres y la edad media de 47 años (36-57). Todos recibían tratamiento antirretroviral por una mediana de 11 años (5-16) y la infección VIH estaba controlada. La mediana de tiempo desde el diagnóstico de infección VIH y detección de hipertensión portal fue 10,5 años (6-17). La forma de presentación fue hemorragia variceal en 5 pacientes, ascitis en 1 y esplenomegalia en 2. Las transaminasas eran normales o discretamente elevadas. La ultrasonografía mostró esplenomegalia y permeabilidad del eje esplenoportal en todos los pacientes. La mediana de gradiente de presión de venas suprahepáticas (GPVH) fue de 8 mmHg (3,5-14,5). El GPVH fue normal ( $\leq 5$  mmHg) en 2 pacientes, moderadamente elevado (GPVH entre 6-10 mmHg) en 4 y  $> 10$  mmHg en 2. La hemodinámica sistémica, evaluada en 6 pacientes, mostró circulación hiperdinámica con incremento del gasto cardíaco y reducción de la resistencia periférica.

La mediana de elastografía hepática fue de 8,9 kPa (6,8 kPa-14,9 kPa). Seis pacientes tenían un valor  $> 7,8$  kPa y 1  $> 14,8$  kPa, valores asociados a fibrosis significativa o cirrosis en pacientes con hepatitis C. En ningún paciente el valor de elastografía era superior al valor descrito, en pacientes con cirrosis, predictivo de varices. Sin embargo, ningún paciente tenía fibrosis hepática significativa o cirrosis y todos tenían varices esofágicas.

Tras un seguimiento mediano de 15 meses (6-30) todos los pacientes seguían vivos pero 6 (75%) desarrollaron trombosis del eje esplenoportal. Los pacientes con hemorragia fueron tratados con ligadura endoscópica y beta-bloqueantes sin presentar recidivas.

Nuestros datos muestran que la HPI es causa de hipertensión portal en pacientes con infección VIHOSPITAL. Esta etiología debe sospecharse cuando existen signos de hipertensión portal, con función hepática conservada, un valor de GPVH normal o ligeramente elevado y/o un valor de elastografía hepática no concordante con las manifestaciones clínicas. Estos pacientes desarrollan frecuentemente trombosis del eje esplenoportal, lo que obliga a controles ultrasonográficos seriados y considerar el tratamiento anticoagulante.

## HIPONATREMIA HIPOVOLÉMICA EN PACIENTES CON CIRROSIS. COMPARACIÓN CON LA HIPONATREMIA HIPERVOLÉMICA. ESTUDIO PROSPECTIVO

M.E. Baccaro, M. Guevara, M. Marinelli, E. Urtasun Sotil, M. Martín-Llahi, A. Nazar, V. Arroyo y P. Ginès

Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Universitat de Barcelona. IDIBAPS. CIBERhd. Ciber de enfermedades Hepáticas y Digestivas. Barcelona. España.

La hiponatremia es una complicación frecuente de los pacientes con cirrosis, que se asocia a un mal pronóstico. Se pueden observar dos tipos de hiponatremia: dilucional o hipervolémica e hipovolémica. El diagnóstico diferencial es importante ya que requieren tratamientos distintos. En la hiponatremia dilucional el objetivo es aumentar la excreción de agua libre mientras que en la hipovolémica es aumentar el contenido corporal de sodio. El objetivo de este estudio fue evaluar de forma prospectiva la frecuencia, características clínicas y evolución de la hiponatremia hipovolémica en comparación con la hiponatremia hipervolémica. Se incluyeron en el estudio todos los pacientes con el diagnóstico de hiponatremia (sodio sérico  $< 130$  mEq/L). Los pacientes con hiponatremia hipervolémica fueron tratados con restricción hídrica mientras que los pacientes con hiponatremia hipovolémica fueron tratados con administración de suero salino. Durante un período de 2 años se identificaron 110 pacientes con hiponatremia. Noventa y nueve (90%) tenían hiponatremia hipervolémica, definida como hiponatremia en presencia de ascitis y edemas, y 11 (10%) hiponatremia hipovolémica, definida como hiponatremia en ausencia de ascitis y edemas. Los pacientes con hiponatremia hipovolémica presentaron hiponatremia más intensa en comparación con los pacientes con hiponatremia hipervolémica (sodio sérico  $121 \pm 5$  vs  $125 \pm 4$  mEq/L, respectivamente,  $p = 0,009$ ). Los pacientes con hiponatremia hipovolémica eran de mayor edad ( $65 \pm 10$  años) y presentaban un hematocrito más elevado ( $39 \pm 7\%$ ) en comparación con los pacientes con hiponatremia hipervolémica ( $55 \pm 9$  y  $31 \pm 5\%$ , respectivamente;  $p < 0,05$ ). La presencia de encefalopatía hepática en el momento del diagnóstico de la hiponatremia fue más frecuente en los pacientes con hiponatremia hipovolémica que en los pacientes con hiponatremia hipervolémica (64 vs 19%, respectivamente;  $p = 0,003$ ). Seis pacientes (54%) con hiponatremia hipovolémica tenían previamente hiponatremia hipervolémica. En 8 de los 11 pacientes con hiponatremia hipovolémica se observó una recuperación del sodio sérico tras el tratamiento. Los 3 pacientes restantes en los que no aumentó el sodio sérico tenían hiponatremia hipervolémica previa. Por el contrario, en los pacientes con hiponatremia hipervolémica no se observaron cambios significativos en la concentración de sodio sérico. La supervivencia a los 3 meses de los pacientes con hiponatremia hipovolémica fue similar a la de los pacientes con hiponatremia hipervolémica (64 vs 63%, respectivamente,  $p = 0,785$ ). En conclusión, la hiponatremia hipovolémica en los pacientes con cirrosis es frecuente, puede ocurrir en pacientes con hiponatremia hipervolémica previa y a menudo se acompaña de encefalopatía hepática. La mayor frecuencia de encefalopatía hepática en la hiponatremia hipovolémica podría ser debida a una mayor intensidad de la hiponatremia y/o a los efectos de la disminución rápida de la concentración de sodio sérico sobre el cerebro.

## IDENTIFICACIÓN PROTEÓMICA DE PÉPTIDOS BACTERIANOS EN EL LÍQUIDO ASCÍTICO DE PACIENTES CON CIRROSIS Y ASCITIS CON CULTIVO NEGATIVO

R. Caño<sup>a,b</sup>, P. Zapater<sup>a,c</sup>, M. Pérez-Mateo<sup>b</sup>, J. Such<sup>a,b</sup> y R. Francés<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>CIBERehd. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

<sup>b</sup>Unidad Hepática. Alicante. España.

<sup>c</sup>Servicio de Farmacología Clínica. Hospital General Universitario. Alicante. España.

**Introducción:** La presencia de ADN-bacteriano ha sido validada en el pasado como un marcador indirecto de traslocación bacteriana en pacientes con cirrosis y ascitis. Se ha comprobado su implicación en la activación del sistema inmune y en la inducción de una marcada actividad proinflamatoria que empeora el pronóstico de estos pacientes. Sin embargo, la intensidad de la respuesta inmunológica frente a microorganismos viables o frente a sus productos puede ser diferente.

**Objetivos:** Encontrar nuevos marcadores de traslocación que complementen y faciliten el diagnóstico precoz y la prevención de complicaciones de tipo infeccioso en estos pacientes, mejorando por tanto su pronóstico.

**Metodología:** Análisis mediante electroforesis en geles bidimensionales de poliacrilamida del contenido proteico del líquido ascítico de pacientes con cirrosis (n = 34), distribuidos de acuerdo con la presencia (n = 17) o ausencia (n = 17) de ADN bacteriano, y de cepas bacterianas tipo frecuentes en estos pacientes. Los mapas proteicos bidimensionales se compararon utilizando PDQuest™ Advanced (Biorad). La identificación de posibles marcadores complementarios de traslocación se realizó por espectrometría de masas dentro de la red nacional ProteoRed. Se determinaron los niveles de TNF- $\alpha$ , Interferon- $\gamma$ , Interleucina 12 y óxido nítrico en muestras de líquido ascítico de todos los pacientes mediante ELISA. Las diferencias entre grupos se compararon mediante el test de la U de Mann-Whitney.

**Resultados:** No se observaron diferencias clínicas o analíticas entre los dos grupos de pacientes incluidos en el estudio. El análisis comparativo de los mapas proteómicos de pacientes con cirrosis y ascitis y de las cepas bacterianas estudiadas reveló la presencia de productos proteicos bacterianos en 7 de los 17 pacientes con ADN-bacteriano (41%). Las proteínas bacterianas identificadas fueron: GAPDH-A, Porin ompC y HSP60. No se detectó presencia de péptidos bacterianos en pacientes sin ADN-bacteriano. Los valores de los mediadores estudiados se muestran en la tabla 1.

**Conclusiones:** Por primera vez se identifican péptidos de origen bacteriano en el líquido ascítico de pacientes con cirrosis y ascitis con cultivo negativo. Su presencia en este medio se asocia con un incremento significativo en la respuesta inmunológica. La validación de estos péptidos como marcadores de traslocación y viabilidad bacterianas, así como la significación clínica de su presencia en el medio constituyen los objetivos de futuros trabajos.

TABLA 1

	ADN bacteriano —	ADN bacteriano +	
	Prot bact — (n = 17)	Prot bact — (n = 10)	Prot bact + (n = 7)
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	163 $\pm$ 43	403 $\pm$ 101*	608 $\pm$ 53* <sup>s</sup>
IFN- $\gamma$ (pg/mL)	238 $\pm$ 62	339 $\pm$ 60*	449 $\pm$ 81* <sup>s</sup>
IL-12 (pg/mL)	340 $\pm$ 85	747 $\pm$ 156*	937 $\pm$ 148* <sup>s</sup>
NOx (nmol/L)	16 $\pm$ 4	25 $\pm$ 4*	30 $\pm$ 8*

\*p < 0,05 comparado con pacientes sin ADN-bacteriano. <sup>s</sup>p < 0,05 comparado con pacientes con ADN-bacteriano sin presencia de péptidos.

## IMPACTO DE LA EDAD DEL DONANTE EN LA RVS EN PACIENTES TRASPLANTADOS HEPÁTICOS (TH) TRATADOS CON IFN-PEG + RIBAVIRINA

A. Rubín, M. Rodríguez, V. Aguilera, M. Prieto, C. Ortiz, F. Gentili, A. Nevárez, R. Cañada, B. Ríazale y M. Berenguer

Servicio de Medicina Digestivo. Hospital La Fe. Valencia y Ciberehd. Valencia. España.

**Introducción:** La terapia antiviral postrasplante posee una eficacia limitada. Es interesante determinar los factores asociados con la respuesta virológica sostenida (RVS).

**Objetivos:** Determinar si la edad del donante influye en la RVS en pacientes TH tratados con IFN-peg+ribavirina.

**Métodos:** 96 pacientes TH (hombres 74%, mediana de edad: 56 años (37-70)), 87% genotipo 1a o 1b, tratados con IFN-peg+ribavirina (pegasys: 62%, pegintron 38%) con una mediana de duración del tratamiento de 356 días (rango: 16-623), a los 576 días (rango: 50-3.978 días) desde el trasplante. La inmunosupresión de base fue tacrolimus-Tac en 62%. El 19% eran cirróticos y 68% tenían fibrosis avanzadas al inicio. La mediana de edad del donante fue de 48 años (rango: 12-78 años).

**Resultados:** Se obtuvo una RVS en 36 pacientes (37,5%). Entre otras variables estudiadas (género, edad al inicio del tratamiento, edad del donante, Child-Pugh pretrasplante, historia de fracaso del tratamiento antiviral pretrasplante, tiempo transcurrido desde el trasplante, fibrosis basal, viremia, tests de laboratorio e inmunosupresión, tipo de IFN-peg, respuesta viral rápida (RVR), respuesta viral temprana (RVT), genotipo, abandono prematuro del tratamiento, reducción de dosis, uso de factores de crecimiento), aquellas asociadas a la RVS en análisis univariante fueron la viremia basal (p = 0,02), RVR (p = 0,002), RVT (p = 0,0001), abandono prematuro del tratamiento (p = 0,02), genotipo (p = 0,05), peso (p = 0,05) y edad del donante (p = 0,007). En pacientes con fibrosis avanzada y cirrosis existe una tendencia a conseguir menor tasa de RVS (48 vs 32%, p = 0,09). En el análisis multivariante, sólo permanecen en el modelo la edad del donante (p = 0,009) y la RVT (p = 0,001). La mediana de edad del donante en el grupo de no respondedores fue de 54 años (rango: 17-78) vs 44 años (rango: 12-69) de los que obtuvieron una RVS (p = 0,007).

**Conclusiones:** Los donantes añosos están asociados a una peor respuesta al tratamiento antiviral con IFN-peg+ribavirina.

## IMPACTO DEL CONTROL DE LA HEPATITIS CRÓNICA C EN EL ESTADIAJE Y LA SUPERVIVENCIA DE PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL

S. Coll<sup>a</sup>, L. Ilzarbe<sup>a</sup>, M.D. Giménez<sup>a</sup>, M. Busto<sup>b</sup>, J. Sánchez<sup>b</sup>, G. Aguilar<sup>b</sup>, F. Burdío<sup>c</sup>, I. Cirera<sup>a</sup>, M. García-Retortillo<sup>a</sup>, N. Cañete<sup>a</sup>, F. Bory<sup>a</sup>, J. Perich<sup>d</sup>, L. Grande<sup>c</sup> y R. Solà<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Sección de Hepatología. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Diagnóstico por la Imagen. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Servicio de Cirugía. IDIMAS. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

**Introducción:** La vigilancia de los pacientes con hepatitis crónica por VHC (HC-VHC) está ampliamente recomendada con el fin de detectar el carcinoma hepatocelular (CHC) en una fase temprana. No obstante, muchos pacientes con HC-VHC son controlados en asistencia primaria con un grado de cumplimiento de los programas de vigilancia desconocido.

**Objetivos:** Estudiar el estadio en el momento del diagnóstico y la supervivencia de pacientes con HC-VHC y CHC en relación con su previo esquema de control.

**Métodos:** Durante el período 1996-2007 se diagnosticaron 327 pacientes de CHC y HC-VHC. Quince pacientes fueron excluidos por pérdida del seguimiento o control en otro centro. Los pacientes se dividieron en tres grupos en función de si el control de la HC-VHC fue realizado por hepatólogos en nuestro hospital (grupo 1:  $n = 157$ ), por médicos en la Atención Primaria (grupo 2  $n = 80$ ) o si no fueron controlados (grupo 3:  $n = 75$ ). Los pacientes se clasificaron y trataron según el sistema BCLC por un equipo multidisciplinar. Fueron seguidos hasta abril de 2008 o hasta su muerte.

**Resultados:** Se incluyeron 312 pacientes (edad  $70 \pm 0,6$  años, media  $\pm$  ES, varones 68,6%). La distribución de pacientes en función del BCLC fue A1: 32 (10,3), A2: 58 (18,6), A3: 63 (20,2), A4: 22 (7,1), B: 65 (20,8), C: 55 (17,6), and D: 17 (5,4). El tratamiento inicial fue percutáneo en 88 (28,3), resección quirúrgica en 10 (3,2), trasplante hepático en 11 (3,5), embolización arterial o quimioembolización en 62 (19,9), sorafenib en 3 (1%) y sintomático en 137 (44,1). La probabilidad de supervivencia actuarial global fue del 63,2 y 16,6% a los 12 y 60 meses, respectivamente. La frecuencia de pacientes con BCLC-A fue superior en el grupo 1 (71,3%) que en los grupos 2 o 3 (51,2% y 29,3%) ( $p = < 0,001$ ). La probabilidad actuarial de supervivencia a los 12 y 60 meses fue del 71,1 y 21,4% en el grupo 1, 70,7 y 19,9% en el grupo 2, y 38,5 y 2,9% en el grupo 3 (Log-Rank  $p < 0,0001$ ).

**Conclusión:** Los programas de vigilancia orientados hacia la detección temprana de CHC en pacientes con hepatitis crónica C son importantes y deberían de ser conocidos y practicados tanto en la consulta externa hospitalaria como en la atención primaria.

#### IMPLICACIONES DE LA NEGATIVIZACIÓN DEL HBSAG EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VHB

E. Lauret<sup>a</sup>, L.G. Diéguez<sup>a</sup>, M. Rodríguez<sup>b</sup>, M. González<sup>c</sup>, S. Melón<sup>b</sup>, L. Rodrigo<sup>a</sup> y M. Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

<sup>c</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

**Introducción:** Existen ciertas discrepancias en el pronóstico de la enfermedad hepática por VHB tras la negativización del HBSAg.

**Objetivo:** Investigar las características clínicas y el pronóstico de una serie de pacientes caucásicos diagnosticados de infección crónica por el VHB, de acuerdo a la persistencia o negativización del HBSAg.

**Pacientes y métodos:** Se estudiaron prospectivamente 720 pacientes con enfermedad compensada por VHB (482H; edad  $36 \pm 14$  años). 149 pacientes (20,7%) recibieron tratamiento antiviral, 108 (15%) estaban coinfectados por otros virus y en 59 (8,2%) se registró ingesta de alcohol. 66 pacientes (9,2%) tenían cirrosis al diagnóstico. El seguimiento fue de  $114 \pm 72$  meses. Periódicamente se llevaron a cabo análisis clínicos y virológicos, y se registró el desarrollo de complicaciones (CHC y/o descompensación y/o muerte de causa hepática).

**Resultados:** En 85 pacientes se negativizó el HBSAg y en 635 permaneció positivo. La edad al diagnóstico fue más alta entre los pacientes con pérdida del antígeno respecto a aquellos con persistencia del mismo ( $41 \pm 12$  vs.  $35 \pm 14$  años,  $p < 0,001$ ). La proporción de pacientes HBeAg positivo ( $p = 0,7$ ), diagnosticados de portador inactivo ( $p = 0,6$ ), con cirrosis ( $p = 0,05$ ), con coinfección por VHC/VHD ( $p = 0,06$ ) y con consumo de alcohol ( $p = 0,2$ ) fue similar entre ambos grupos. La edad a la desaparición del HBSAg fue de  $48 \pm 13$  años. El antiHBs ( $> 10$  mUI/ml) se desarrolló en 56/85 pacientes (65,9%) y se asoció con la ausencia de coinfección viral y

con la pérdida del antígeno tras tratamiento. Después de la negativización, se detectó ADN-VHB sérico en 1/43 pacientes (2,3%). Se registró la reaparición del HBSAg en 3/85 pacientes (3,5%) en relación a situaciones de inmunosupresión. Tras la pérdida del antígeno, se produjeron complicaciones (1 CHC; 2 insuficiencia hepática) en 3 pacientes (3,5%), todos con cirrosis previa a la negativización. En aquellos con persistencia del HBSAg, en 17 (2,7%) se desarrolló un CHC, 46 (7,2%) tuvieron al menos un episodio de descompensación, 20 (3,1%) fallecieron de causa hepática y 10 (1,6%) se trasplantaron. A 10 años de seguimiento, la probabilidad acumulada de presentar al menos una complicación fue del 9,3% en aquellos que mantuvieron el antígeno y de 1,4% para los que lo negativizaron ( $p = 0,01$ ).

**Conclusión:** La pérdida del HBSAg confiere un pronóstico clínico favorable, si bien los pacientes cirróticos pueden desarrollar complicaciones tras la negativización y la reaparición del antígeno puede ocurrir en casos seleccionados coincidiendo con situaciones de inmunosupresión.

#### INCREMENTO DEL DETERIORO CIRCULATORIO Y DE LA GRAVEDAD DE LA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA EN EL MOMENTO ACTUAL

B. Merino Rodríguez, O. Núñez Martínez, D. Rincón Rodríguez, A. Díaz Sánchez, M. Vega Catalina Rodríguez, M. Salcedo Plaza, A. Matilla Peña, G. Clemente Ricote y R. Bañares Cañizares

Sección de Hepatología. Servicio de Digestivo. Hospital Gregorio Marañón - CIBEREHD. Madrid. España.

**Introducción y objetivos:** La PBE es una causa frecuente de muerte en pacientes cirróticos lo que ha motivado estrategias de profilaxis antibiótica que pueden modificar la flora responsable y su comportamiento clínico. El objetivo de este estudio fue comparar las características clínicas, hemodinámicas y pronósticas de dos cohortes de pacientes con PBE.

**Pacientes y métodos:** Se analizó una cohorte de 243 episodios de PBE constituida por una cohorte histórica de 158 episodios (enero 2003 a diciembre 2005) y una cohorte contemporánea (CC) de recogida prospectiva desde septiembre 2007 a octubre 2008. El manejo clínico de ambas cohortes fue similar incluyendo expansión de volumen con albúmina y antibioterapia con cefalosporinas de 3.<sup>a</sup> generación. Se compararon datos clínicos, microbiológicos, hemodinámicos (disponibles en 87 pacientes) y evolutivos entre ambas series y se construyó un modelo de regresión logística para identificar factores predictivos de mortalidad intrahospitalaria (MIH) en la totalidad de la cohorte.

**Resultados:** No hubo diferencias en las características demográficas ni de la gravedad de la enfermedad hepática entre los pacientes de ambas cohortes; pero, los pacientes de la CC presentaron al ingreso con más frecuencia origen etílico (55,6 vs. 39,9%,  $p = 0,024$ ), ascitis a tensión (23,3 vs. 12%,  $p = 0,03$ ), íleo paralítico (6,1 vs. 1,3%,  $p = 0,028$ ) e insuficiencia renal (48,9 vs 32,3%,  $p = 0,014$ ). La MIH y a tres meses fue superior en la CC [30,6% frente a 19,6% ( $p = 0,054$ ), y 63,5 frente a 25,3% ( $p = 0,001$ )]. Los pacientes de la CC presentaron mayor deterioro hemodinámico sistémico [GC: 8,5 (1,5) Vs. 7,4 (2,2) L/min,  $p = 0,038$ ; RVS: 758 (191) vs. 900 (312) dyn.s.cm<sup>-5</sup>,  $p = 0,04$ ] y esplácnico (GPVH [22 (4,2) vs. 17,8 mmHg,  $p = 0,001$ ]. Además en la CC hubo mayor proporción de SHR (32,5 vs 10%,  $p = 0,015$ ), mayor recuento de leucocitos en LA [3919,8 (771,7) vs 1309,5 (255,1)  $p = 0,001$ ], detección más frecuente de bacteriemias (25,9 vs 8,4%,  $p = 0,001$ ) y mayor proporción de pacientes con infección por bacterias G(+) (14,3 vs. 2%  $p = 0,002$ ). No hubo diferencias en la proporción de PBE de origen nosocomial entre ambas cohortes (25 vs. 30,6%,  $p = 0,429$ ). En el análisis multivariado, los factores predictivos independientes de MIH fueron la PAM  $< 75$  mmHg (OR = 10,1 IC 95% 4,1-24,6), la EH (OR = 2,9 IC 95% 1,4-5,9),



la insuficiencia renal (OR = 1,9 IC 95% 1,2-3,9), el tratamiento diurético en la infección (OR = 1,5 IC 95% 1,3-2,1) y el pertenecer a la CC (OR = 3,6 IC 95% 1,6-8,5). Por su parte a largo plazo fueron la PAM < 75mmHg (HR = 5,9 IC 95% 3,8-9,1), el CHC (HR = 1,97 IC 95% 1,3-2,9), la edad > 65 años (HR = 1,6 IC 95% 1,1-2,2) y el pertenecer a la CC (HR = 5,9 IC 95% 3,8-9,1).

**Conclusiones:** La presentación clínica de la PBE pudiera estar cambiando en los últimos años, con un mayor grado de deterioro circulatorio y con incremento de la mortalidad hospitalaria y a largo plazo.

## INFLUENCIA DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA EN EL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (HGNA). EVOLUCIÓN HISTOLÓGICA

M. Ferrer Márquez<sup>a</sup>, L. Miras Lucas<sup>b</sup>, A. Pérez González<sup>b</sup>, J. González García<sup>b</sup>, A. Gálvez Miras<sup>b</sup>, C. Carvia Pousaillè<sup>c</sup>, J. Velasco Albendea<sup>d</sup> y M. Casado Martín<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Cirugía General. Hospital de Torrecárdenas. Almería. España.

<sup>b</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital de Torrecárdenas. Almería. España.

<sup>c</sup>Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital de Torrecárdenas. Almería. España.

<sup>d</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital de Torrecárdenas. Almería. España.

**Introducción:** La obesidad es la condición más frecuentemente asociada al HGNA por lo que teóricamente la pérdida de peso debería seguirse de una mejoría del mismo. Por otra parte hay estudios que evidencian que una rápida pérdida de peso puede dar lugar a un empeoramiento de la inflamación portal y la fibrosis. El efecto de la pérdida de peso inducido por la cirugía bariátrica en las lesiones histológicas asociadas al HGNA no es del todo conocido por lo que es necesaria la realización de estudios que evalúen el impacto de la misma en el HGNA, fundamentalmente en aquellas formas de HGNA con potencial evolución a patología hepática grave como es la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

**Objetivos:** Los objetivos de nuestro estudio han sido evaluar el impacto de la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica en el HGNA y describir el grado de lesión hepática desde el punto de vista histológico en pacientes con obesidad mórbida subsidiarios de cirugía bariátrica.

**Material y métodos:** Se han incluido 76 pacientes con obesidad mórbida subsidiarios de tratamiento con cirugía bariátrica (Intervención de Scopinaro) en los cuales se ha realizado una biopsia hepática en el momento de la intervención. En 39 de ellos se ha llevado a cabo una segunda biopsia hepática a los 12-24 meses tras la cirugía.

**Resultados:** De los 76 pacientes estudiados un 80% eran mujeres con una edad media de 38 ± 9 años y un IMC de 51 ± 8 Kg/m<sup>2</sup>. En la primera biopsia 67 pacientes (88%) mostraban signos histológicos de HGNA. De ellos, 26 (39%) tenían signos histológicos de EHNA mientras que el resto presentaban esteatosis hepática simple. En los pacientes re-biopsiados el IMC disminuyó a 35,2 ± 6,3 Kg/m<sup>2</sup>. En esta serie de pacientes, en la primera biopsia 37 presentaban signos de HGNA, 16 de ellos con signos de EHNA. Tras la pérdida de peso, 11 pacientes presentaban hígado normal y 28 signos de HGNA, de los cuales tan sólo 2 mostraron signos de EHNA. Ningún paciente mostró empeoramiento de las lesiones hepáticas y se evidenció una mejoría de las mismas en 35 pacientes.

**Conclusiones:** El HGNA está presente en la mayor parte de los pacientes con obesidad mórbida aunque tan solo un tercio de ellos presentan formas potencialmente progresivas (EHNA). La pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica se asocia con una mejoría de las lesiones histológicas hepáticas, destacando que los signos de

EHNA desaparecen en casi la totalidad de los pacientes, por lo que la cirugía bariátrica podría ser el tratamiento de primera elección en pacientes con obesidad mórbida, fundamentalmente aquellos diagnosticados de EHNA.

## INFLUENCIA DE LA INMUNOSUPRESIÓN SIN CORTICOIDES EN LA EVOLUCIÓN HISTOLÓGICA DE LA RECIDIVA DEL VHC TRAS EL TRASPLANTE: RESULTADOS DE UN ESTUDIO PROSPECTIVO Y RANDOMIZADO

L. LLadó<sup>a</sup>, J. Castellote<sup>a</sup>, J. Fabregat<sup>a</sup>, C. Baliellas<sup>a</sup>, E. Ramos<sup>a</sup>, X. Xiol<sup>a</sup>, J. Torras<sup>a</sup>, T. Serrano<sup>a</sup>, A. García-Gil<sup>b</sup>, I. González-Pinto<sup>c</sup> y A. Rafecas<sup>a</sup>; THOSIN Study Group

<sup>a</sup>Unidad de Trasplante Hepático. IDIBELL. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Hospital Lozano Blesa. Zaragoza. España.

<sup>c</sup>Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

**Objetivo:** Evaluar la influencia de la inmunosupresión sin corticoides en la recidiva de la hepatopatía VHC tras el trasplante hepático.

**Pacientes y métodos:** Se randomizaron 198 pacientes a recibir inmunosupresión con basiliximab y ciclosporina, con esteroides (Grupo St) o sin corticoides (Grupo NoSt) tras el trasplante. El grupo de 89 pacientes VHC fueron seguidos durante 2 años mediante biopsias protocolizadas a los 6 meses y a 1 y 2 años. Se analiza este subgrupo de pacientes.

**Resultados:** La incidencia de rechazo fue del 19% (St: 21 vs. NoSt: 17%; p = 0,67). Los pacientes del grupo St tuvieron mayor incidencia de infecciones bacterianas (59 vs 38%; p = 0,05). Practicamente todos los pacientes tuvieron signos histológicos de recidiva del VHC, St: 39/49 (97%) vs NoSt 40/41 (97%), p = 1. El número de pacientes con inflamación portal grado 4 a los 6 meses, 1 y 2 años fue de 1, 3 y 3 en el grupo NoSt comparado con 4, 8 y 10 en el grupo St. El número de pacientes con fibrosis grave, grado 3 o 4 a los 6 meses, 1 y 2 años fue de 0,3 y 8 en el grupo NoSt comparado 3, 7 y 12 en el grupo St.

**Conclusiones:** La inmunosupresión sin corticoides es segura, reduce las complicaciones infecciosas y metabólicas y muestra una tendencia a mejorar la evolución histológica de la recidiva del VHC.

## INFLUENCIA DE LA VARIABILIDAD DE LOS DATOS ANALÍTICOS Y DE LA EDAD EN LA VALORACIÓN DE LA FIBROSIS MEDIANTE LOS ÍNDICES Forns, FIB4 Y APRI EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C (HCC)

J. Aguilar Reina<sup>a</sup>, E. Gómez Delgado<sup>a</sup>, M.D. Cruz<sup>a</sup> y J.M. Praena<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. España.

<sup>b</sup>Unidad de Metodología. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. España.

**Introducción:** Se han descrito numerosos métodos alternativos a la biopsia hepática para valorar el estadio de fibrosis del hígado en infectados crónicamente por VHC. Aparte de la posibilidad de identificar el estadio en un momento concreto, se ha propuesto su uso para seguir la evolución de la fibrosis.

**Objetivo:** Conocer la reproducibilidad de los resultados en la clínica habitual teniendo en cuenta la variabilidad de la analítica en momentos diferentes y la edad.

**Pacientes y métodos:** El estudio incluye todos los pacientes con HcC (mono infectados) biopsiados durante los años 2006 y 2007 y que tenían datos analíticos, realizados durante la semana antes de la fecha de la biopsia, suficientes para calcular los 3 índices. Se

calcularon los 3 índices en el momento de la biopsia y, además, utilizando determinaciones analíticas realizadas en un plazo máximo de 12 meses antes ( $4,2 \pm 2,6$  meses) y después ( $5,6 \pm 3,8$  meses), sin modificación de la edad. Se realizó simulación consistente en mantener los datos analíticos del momento de la biopsia y calculando cada uno de los índices suponiendo que los pacientes tuvieran 1 año menos, y 1 y 10 años más. Las biopsias se clasificaron según el I. de Knodell en fibrosis 0-1 y 3-4.

**Resultados:** Pacientes: 119. Área bajo la curva ROC en el momento de la biopsia para identificar fibrosis 3-4, para los índices (FORNS, APRI y FIB4): 0,74-0,79-0,75, respectivamente. Los datos analíticos anteriores, en la biopsia y posteriores mostraron diferencias significativas ( $> 0,05$ ), así como los valores calculados según FORNS y FIB4 ( $> 0,05$ ), no así con APRI. La mayor variabilidad aparece para el cut off  $< 4,2$  de FORNS (14% cambian de estadio). El cálculo de los índices con los mismos datos analíticos y la simulación descrita demuestra que la edad por sí sola induce sobrevaloración de la fibrosis, que llega a cambiar de estadio entre el 16,2% de los pacientes (Forns, cut off: 4,2) y el 14,3% (FIB4, cut off: 1,45) si los pacientes tuvieran 10 años más.

**Conclusiones:** La variabilidad analítica determina diferencias significativas en la valoración de la fibrosis. El aumento de edad incrementa por sí sola la valoración, especialmente cuando la fibrosis es escasa. Este hecho hace, además, poco útiles los índices que incluyen este parámetro para vigilar las modificaciones de la fibrosis hepática a lo largo de la evolución de los pacientes.

## INFLUENCIA PRONÓSTICA A LARGO PLAZO DE LA RECIDIVA PRECOZ EN LA PROFILAXIS SECUNDARIA DE HEMORRAGIA VARICOSA

V. Hernández-Gea<sup>a</sup>, A. Colomo<sup>a,b</sup>, C. Aracil<sup>a</sup>, C. Álvarez-Urturi<sup>a</sup>, J. Gordillo<sup>a</sup>, A. Gallego<sup>a</sup>, X. Torras<sup>a,b</sup>, C. Villanueva<sup>a,b</sup> y C. Guarner<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Sangrantes. Servicio de Patología Digestiva. Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

**Introducción y objetivo:** Después de un episodio de hemorragia varicosa existe una probabilidad de recidiva  $> 60\%$  a 2 años, que aumenta el riesgo de mortalidad. El riesgo de recidiva es especialmente elevado en las primeras semanas. Sin embargo, las implicaciones pronósticas de la recidiva precoz han sido poco evaluadas y se desconoce si difieren de las de la recidiva tardía. Los  $\beta$  bloqueantes  $\pm$  nitratos, la ligadura endoscópica o la combinación de ambos, son tratamientos de primera línea para la prevención de recidiva hemorrágica. El objetivo del estudio fue evaluar la influencia de la recidiva precoz en el pronóstico a largo plazo de los pacientes que reciben alguno de estos tratamientos para la profilaxis secundaria de hemorragia varicosa.

**Métodos:** En un período de 10 años, se incluyeron 400 pacientes en profilaxis secundaria de hemorragia varicosa con  $\beta$ bloqueantes  $\pm$  nitratos, ligadura, o ambos. Se definió como recidiva cualquier episodio de hematemesis o melena durante el seguimiento y se consideró precoz la acaecida en las primeras 6 semanas.

**Resultados:** Un 48% de paciente tenía etiología alcohólica, 81% eran Pugh B/C inicial y 38% presentaron respuesta hemodinámica. En  $47 \pm 44$  meses de seguimiento, 152 pacientes (38%) presentaron recidiva hemorrágica que fue precoz en 69 (17%, 47% del total de recidivas) y 229 (57%) fallecieron. La tasa de recidiva precoz fue mayor en los tratados con ligadura (30%) respecto a los tratados con fármacos (10%,  $P < 0,01$ ) o ligadura+fármacos (14%,  $P < 0,01$ ). Los pacientes con recidiva precoz tenían, respecto a aquellos sin ella, un peor Pugh basal y al 3er mes y una menor tasa de respuesta hemodinámica (9 vs 40%,  $P < 0,001$ ). 24 pacientes con

recidiva precoz recibieron tratamiento de rescate con TIPS. Se produjo recidiva tardía en un 43% de los que recibieron TIPS vs 33% de los rescatados con ligadura+fármacos ( $p$  NS). La probabilidad de recidiva tardía fue mayor en los que presentaron recidiva precoz respecto a los que no la presentaron (34 vs 21% a los 3 años,  $P = 0,001$ ). La supervivencia fue menor en los que presentaron recidiva precoz respecto a los que no la presentaron (37 vs 64% a 3 años,  $P < 0,001$ ) y también respecto a los que presentaron recidiva tardía ( $P = 0,002$ ). La recidiva precoz, el tratamiento con ligadura, la no-respuesta hemodinámica y el Pugh fueron predictores independientes de mortalidad. Según el modelo CART, la recidiva precoz fue el mejor predictor individual de mortalidad, seguido por un Pugh  $> 7$  al 3r mes y la no-respuesta hemodinámica, estratificando grupos de riesgo con una mortalidad entre el 54 al 91%.

**Conclusiones:** Los pacientes que presentan una recidiva hemorrágica precoz tienen una mayor probabilidad de recidiva tardía y mortalidad que los que no la presentan y una mayor mortalidad que aquellos que solo presentan recidiva tardía. Dada la elevada mortalidad a pesar del tratamiento de rescate, incluido TIPS, el trasplante hepático podría considerarse como alternativa en caso de recidiva precoz.

## INHIBICIÓN DE LA GLUTAMINASA INTESTINAL

M.M. Díaz-Herrero<sup>a,b</sup>, M. Jover<sup>b</sup>, J.M. Vega-Pérez<sup>c</sup>, F. Iglesias-Guerra<sup>c</sup>, I. Perinán<sup>c</sup>, M. Romero-Gómez<sup>b</sup> y J. Bautista<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Bioquímica, Bromatología, Toxicología y M.L. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

<sup>b</sup>UGCED-CIBERehd. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

<sup>c</sup>Departamento de Química Orgánica y Química Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

**Introducción:** La actividad glutaminasa (PAG) define el primer golpe en la fisiopatología de la encefalopatía hepática. En el intestino, la principal fuente de amonio deriva de la deamidación de la glutamina por acción de la PAG.

**Objetivo:** Búsqueda de moléculas con capacidad de inhibir parcialmente la actividad glutaminasa.

**Materiales y métodos:** Programa de screening para inhibidores de la PAG. Se seleccionaron sustancias de una batería de productos sintetizados a partir de la tiourea. **Metodología de screening:** adaptación del método de Heini para medida de la actividad PAG mediante un procedimiento en microplacas. **Estudio cinético:** Medida de la actividad de la PAG a diferentes concentraciones de glutamina y/o inhibidor. Análisis de datos mediante el paquete bioinformático Enzfitter (Biosoft).

**Resultados:** Tras el cribado de la batería de productos obtenidos a partir de la tiourea se ha seleccionado un producto, el THDP-17, que presenta una inhibición de la PAG de riñón e intestino del 60%. El estudio cinético de este producto muestra que el inhibidor THDP-17 se comporta como un inhibidor de tipo acompetitivo, ya que tanto la  $K_m$  como la  $V_{max}$  de la enzima son alteradas por el inhibidor. La  $V_{max}$  observada sin inhibidor es  $11,1E3 \pm 0,78$  U/L y para THDP-17 es  $4,73E3 \pm 1,4$  U/L. La actividad inhibida se sitúa entre el 44,8 y el 70%.

**Conclusión:** La inhibición parcial, mostrada por este inhibidor, hace pensar que podría ser un buen candidato para el control de la hiperamonemia en pacientes con EH, ya que permite el funcionamiento de la enzima pero a una menor tasa.

Agradecimientos: FIS PI040384 y PI070425.

## INMUNOSUPRESIÓN DESPUÉS DE TRASPLANTE HEPÁTICO EN NIÑOS: ENCUESTA DE 20 CENTROS EUROPEOS

P. Jara; Estudio Colaborativo ESPGHAN\*

**Objetivos:** La inmunosupresión (IS) primaria, su vigilancia, y las decisiones frente a los episodios de disfunción del injerto no son prácticas estandarizadas en el trasplante hepático (TH) infantil. Con el objetivo de conocer la práctica en los centros europeos, el comité de Hepatología de ESPGHAN (Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica) propuso una encuesta y una reunión para debate.

**Metodos:** En Junio 2007 fue enviado un cuestionario a hepatólogos de 25 centros europeos con programa de TH infantil. Hubo respuesta de 20 centros: en Alemania (4), Bélgica (1), España (5), Francia (3), Italia (2), Polonia (1), Portugal (1), Reino Unido (2) y Suecia (1). En noviembre 2007 tuvo lugar la reunión de presentación y debate.

**Resultados:** 1) IS primaria: fue elegida por hepatólogos en 11 centros (55%), cirujanos en 1 (5%) y ambos equipos en 8 (40%). El protocolo era decisión del propio centro en el 80%, en el 20% estaba sometido a un ensayo uni o multicéntrico. El inmunosupresor central fue tacrolimus en 16 centros (80%), ciclosporina en 2 y comparación en ensayo en 2. Los esteroides intraoperatorios eran aplicados en el 80% de los centros, en el postoperatorio inicial en 14 centros, en la mitad de ellos sin proyecto de retirada a medio-largo plazo. Un tratamiento inicial con anti CD25 era administrado en 11 centros (55%). En el postoperatorio a medio y largo plazo 9 centros empleaban micofenolato (MMF), la mayoría correspondían a protocolos sin esteroide a medio-largo plazo. En conjunto, en el período inicial hubo en los 20 centros 12 pautas diferentes de combinación de fármacos, y en el postoperatorio medio-largo las pautas fueron: tacrolimus (21%), tacrolimus+esteroide (29%), tacrolimus+ MMF (29%), ciclosporina+ MMF (13%), otros (8%). 2) Rechazo precoz: Ocurre en < 30% (50% centros) a 40-50% (20% centros). Las opciones secuenciales de tratamiento más empleadas son 1.ª: bolos de esteroide, 2.ª: aumento de nivel de tacrolimus, 3.ª: MMF, 4.ª: antiCD25. 3) Disfunción tardía del injerto, asintomática: tras la exclusión de causa vascular o biliar, no es práctica habitual modificar empíricamente la IS. En niños con aminotransferasas elevadas la biopsia es útil para diagnóstico (45% de centros) o sólo evalúa el daño (55%); en caso de ALT y GGT elevadas, el 70% de centros la considera útil para diagnóstico. La causa principal de patología de injerto a largo plazo es: biliar (9 centros), rechazo/incumplimiento (6 centros), idiopática (6 centros). El 45% realiza una biopsia rutinaria a largo plazo.

**Conclusiones:** En el postoperatorio inicial hay múltiples combinaciones de inmunosupresores en uso, por lo que deberían organizarse ensayos para evaluar la óptima. La IS a largo plazo tiene opciones limitadas que favorecen estudios multicéntricos para definir objetivos de función de injerto, función renal, crecimiento y riesgo de PTLD.

\*Participantes:

Alemania: Hamburg-Eppendorf, Kiel, Tuebingen, Essen; Heidelberg; Belgica: Louvain; España: H La Paz Madrid; H12 de Octubre, Madrid; HVal d'Hebrón, Barcelona; H Reina Sofía, Córdoba; H La Fe, Valencia; Francia: Bicetre, Necker-Enfants Malades; H Lyon; Italia: Ismett Palermo, HPadova; Polonia: Warsaw; Portugal: Coimbra; Reino Unido: King's College, Birmingham CH Suecia: Karolinska I Stockholm

## LA ADMINISTRACIÓN DE ANTIOXIDANTES SIN GLUTAMATO NO DISMINUYE EL SOBRECRECIMIENTO BACTERIANO INTESTINAL NI LA TRANSLOCACIÓN BACTERIANA EN RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS

E. Sánchez<sup>a</sup>, M. Chiva<sup>a</sup>, G. Soriano, B. Mirelis<sup>b</sup>, E.J. Schiffrin<sup>c</sup>, G. Reuteler<sup>c</sup>, P. Coll<sup>b</sup> y C. Guarner<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Patología Digestiva. CIBEREHD. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Nestlé Research Centre. Lausanne. Suiza.

**Introducción:** La administración de antioxidantes como las vitaminas C y E y la glutamina es efectiva para disminuir el daño oxidativo en la mucosa intestinal y la translocación bacteriana en ratas con hipertensión portal y con ligadura biliar (Schimpl, Gut 1996 y Eur Surg Res 1997). Se ha observado en ratas cirróticas con ascitis tratadas con glutamato y con vitamina C una disminución en el sobrecrecimiento bacteriano intestinal y en la translocación bacteriana (Chiva, J Hepatol. 2002). Sin embargo, el glutamato podría tener efectos indeseables en pacientes cirróticos, ya que podría favorecer el desarrollo de encefalopatía hepática.

**Objetivo:** Determinar el efecto de una combinación de antioxidantes sin glutamato (vitamina C, vitamina E, selenio y zinc) sobre la flora intestinal, el daño oxidativo en la mucosa intestinal y la translocación bacteriana en ratas cirróticas con ascitis.

**Métodos:** Dieciocho ratas Sprague-Dawley con cirrosis inducida por CCl<sub>4</sub> mediante sondaje gástrico y ascitis demostrada por paracentesis fueron randomizadas para recibir antioxidantes (vitamina C 2 mg, vitamina E 2 mg, selenio 0,05 mg y zinc 1 mg) diariamente mediante sondaje gástrico, diluidos en 1 ml de agua estéril destilada (grupo I, n = 9) o agua (grupo II, n = 9). Un grupo control de ratas no cirróticas recibió agua (grupo III, n = 10). Tras 10 días de tratamiento, se realizó laparotomía para obtener muestras de ganglios linfáticos mesentéricos, líquido ascítico y pleural, heces de íleon y ciego para estudio microbiológico, y pared de íleon para determinación de malondialdehído (MDA), como índice de daño oxidativo.

**Resultados:** En la laparotomía, todas las ratas de los grupos I y II y ninguna del grupo III presentaron ascitis. En las ratas cirróticas, no se observaron diferencias en la concentración de enterobacterias en ciego (grupo I 4,81 ± 0,40 vs grupo II 4,82 ± 0,36 log<sub>10</sub>ufc/g) o en íleon (3,97 ± 0,29, vs 4,43 ± 0,35 log<sub>10</sub>ufc/g) (pNS). Los niveles de MDA en las muestras de íleon fueron inferiores en el grupo I respecto al grupo II, aunque sin alcanzar significación estadística (0,56 ± 0,13 vs 0,86 ± 0,20 nmol/mg proteínas). La incidencia de translocación bacteriana fue similar en ambos grupos de ratas cirróticas (3/9 en el grupo I y 4/9 en el grupo II), pero significativamente superior en las ratas cirróticas respecto a las ratas control (7/18 vs 0/10, p = 0,03).

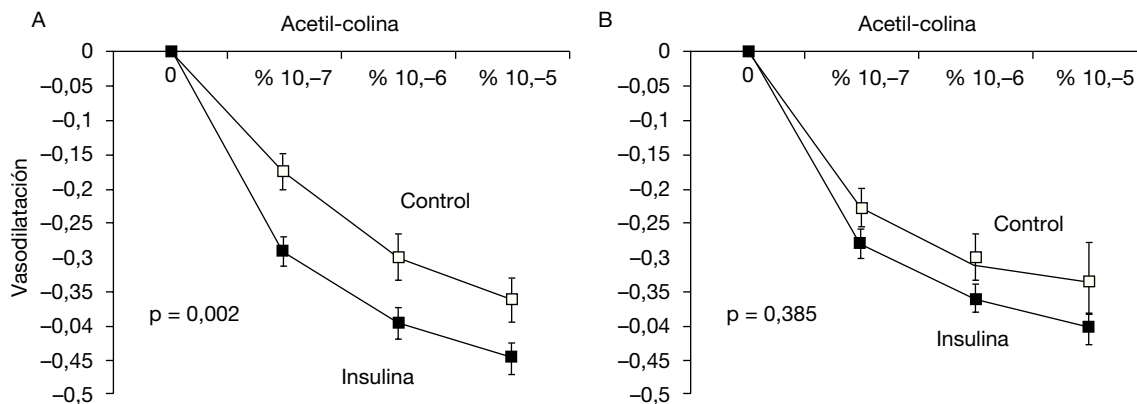
**Conclusión:** La combinación de antioxidantes sin glutamato (vitamina C, vitamina E, selenio y zinc) produce una disminución no significativa del daño oxidativo intestinal, pero no disminuye la concentración de enterobacterias intestinales ni previene la translocación bacteriana en este modelo experimental.

## LA ADMINISTRACIÓN DE UNA DIETA RICA EN GRASA DURANTE 3 DÍAS INDUCE EN RATAS ESTEATOSIS E INSULINO RESISTENCIA EN EL ENDOTELIO SINUSOIDAL HEPÁTICO

M. Pasarín, J.G. Abalde, A. Rodríguez-Vilarrupla, V. la Mura, J. Gracia-Sancho, J.C. García-Pagán y J. Bosc Hospital

Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Servicio de Hepatología. Hospital Clínic-IDIBAPS. Ciberehd. Barcelona. España.

**Introducción y objetivos:** La insulina ejerce un efecto protector vascular activando la producción endotelial de óxido nítrico (NO) a través de la fosforilación de eNOS. En el síndrome metabólico, caracterizado por la presencia de insulino resistencia (IR), se alteran



los efectos endoteliales de la insulina, lo cual contribuye al daño vascular. La IR juega un papel clave en la patogénesis de la enfermedad hepática por depósito de grasa (EHDG). Recientemente hemos demostrado la existencia de disfunción endotelial sinusoidal hepática en ratas con EHDG. El objetivo del presente estudio fue evaluar si en la EHDG existe IR en el endotelio sinusoidal hepático, y su papel en la disfunción endotelial sinusoidal.

**Métodos:** En ratas Wistar se administró una dieta control (n=30) o una dieta con un 59% de grasa (DG; n = 30). Al tercer día se evaluó la función vascular hepática mediante perfusión hepática *ex-vivo*, y se realizaron los estudios histológicos (H/E y *oil red*) y de *western blot* de eNOS y eNOS fosforilada en hígado. La sensibilidad del endotelio sinusoidal hepático a la insulina se estudió evaluando la vasodilatación hepática dependiente de endotelio (en respuesta a acetilcolina; ACh, en presencia o ausencia de insulina) y el grado de fosforilación de eNOS hepática en respuesta a la inyección portal de insulina.

**Resultados:** Las ratas del grupo DG presentaron esteatosis hepática macrovesicular. No se observaron cambios en las ratas control. Los hígados del grupo control mostraron una vasodilatación dosis-dependiente en respuesta a la insulina. Esta respuesta estaba significativamente atenuada en los hígados del grupo DG (p = 0,031). El pretratamiento con insulina potenció significativamente la vasodilatación dependiente de endotelio de la vasculatura hepática en ratas control (fig. 1A), pero no en ratas DG (fig. 1B). La inyección portal de insulina provocó un marcado aumento de la fosforilación de eNOS a nivel hepático en ratas control ( $\times 2,54 \pm 0,1$ ; p = 0,004), pero no en ratas DG ( $\times 1,21 \pm 0,08$ ; p = 0,2), datos que demuestran la existencia de IR endotelial hepática.

**Conclusiones:** La administración de una dieta rica en grasa durante 3 días induce esteatosis hepática e insulino resistencia en el endotelio sinusoidal hepático. Estos hallazgos sugieren que la insulino resistencia podría contribuir a las alteraciones de la microcirculación hepática observadas en fases precoces de la EHDG.

### LA CARDIOTROFINA-1 (CT-1) AUMENTA LA SUPERVIVENCIA EN UN MODELO DE FALLO HEPÁTICO FULMINANTE (FHF) POR HEPATITIS VÍRICA EN EL CONEJO

M.J. Tuñón<sup>a</sup>, R. García-Lastra<sup>b</sup>, I. Crespo<sup>a</sup>, B. San Miguel<sup>a</sup>, M. Íñiguez<sup>c</sup>, E. Larrea<sup>c</sup>, I. González<sup>c</sup>, I. Herrero<sup>c</sup>, J. Quiroga<sup>c</sup>, M. Álvarez<sup>b</sup>, J. González-Gallego<sup>a</sup> y J. Prieto<sup>c</sup>

<sup>a</sup>CIBEREHD. Instituto de Biomedicina. Universidad de León. León. España.

<sup>b</sup>Departamento de Sanidad Animal. Universidad de León. León. España.

<sup>c</sup>CIBEREHD. División de Hepatología y Terapia Génica. CIMA. Universidad de Navarra. Navarra. España.

**Introducción:** La cardiotrofina-1 (CT-1) es una citoquina de la familia de la interleucina-6 que, una vez unida a su receptor en

los hepatocitos, promueve la activación de diversas rutas de supervivencia celular. Estudios previos han indicado que esta proteína es capaz de estimular la regeneración hepática y proteger a los hepatocitos en diversos modelos animales quirúrgicos y tóxicos de fallo hepático fulminante (FHF). La enfermedad hemorrágica del conejo (RHD), producida por un virus perteneciente a la familia *Caliciviridae*, causa en estos animales una hepatitis aguda mortal que cumple los criterios para ser considerada un modelo animal adecuado de FHF. Esta enfermedad del conejo reproduce los aspectos bioquímicos, histológicos y clínicos de la hepatitis vírica fulminante humana, enfermedad para la que no existe tratamiento disponible salvo el de soporte o la sustitución del órgano.

**Objetivo:** Determinar si la administración de CT-1 mejora la supervivencia en un modelo animal de FHF de etiología vírica.

**Métodos:** Se han utilizado 24 conejos machos de raza Nueva Zelanda blanca de 9 semanas a los que se administró i.m.  $2 \times 10^4$  unidades hemoaglutinantes del virus de la RHD (aislado Ast/89). Los animales se incluyeron en tres grupos: conejos que recibieron 2 dosis (400 microg/Kg peso) de CT-1 (i.v.) a las 12 y 18 horas pos-infección (hpi), animales que recibieron 3 dosis de la misma cantidad de CT-1 a las 12, 18 y 24 hpi y conejos control que recibieron solución salina en los mismos periodos. Se determinaron en suero las actividades AST y ALT.

**Resultados:** Todos los conejos se mantenían con vida a las 24 hpi. A las 36 hpi sobrevivían todos los animales tratados con CT-1 mientras que la supervivencia en los animales infectados no tratados era del 55%. A las 60 hpi solo un 18% de los conejos control se mantenían con vida frente al 80% en los dos grupos tratados. A los 7 días posinfección todos los animales infectados no tratados habían muerto mientras que el 33% de los tratados con 2 dosis de CT-1 y el 80% de los tratados con 3 dosis de CT-1 sobrevivían. A las 24 hpi las actividades de ALT y AST en los conejos tratados con 2 y 3 dosis de CT-1 se mantuvieron similares al período basal mientras que en el grupo control alcanzaron valores 20 y 3 veces superiores, respectivamente. A los 7 días hpi las actividades ALT y AST se recuperaron en los animales supervivientes de los grupos tratados con CT-1. El tratamiento con CT-1 fue bien tolerado sin haberse observado efectos tóxicos aparentes.

**Conclusión:** Los datos obtenidos en nuestro estudio ponen de manifiesto el efecto protector de la CT-1 en el FHF producido por el virus de la RHD. Este tratamiento permite alcanzar altas tasas de supervivencia en una enfermedad que es letal en el total de los animales no tratados. La CT-1 debe ser considerada como un tratamiento potencial de la hepatitis fulminante.

Financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria

## LA DETERMINACIÓN REPETIDA DE LA RIGIDEZ HEPÁTICA EN PACIENTES CON RECURRENCIA DE LA HEPATITIS C TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO IDENTIFICA PRECOZMENTE A PACIENTES CON DIFERENTE PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS

J.A. Carrión<sup>a</sup>, F. Torres<sup>b</sup>, M. Bruguera<sup>a</sup>, J.C. García-Valdecasas<sup>c</sup>, X. Forn<sup>a</sup> y M. Navasa<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología.

<sup>b</sup>Estadística y Metodología. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Cirugía y Trasplante Hepático del Hospital Clínic. IDIBAPS.

CIBERehd. Barcelona. España.

**Introducción:** La fibrosis hepática significativa ( $F \geq 2$ ) y el gradiente de presión portal elevado ( $GPP \geq 6$  mmHg) al año del trasplante hepático (TH) identifican a pacientes con recurrencia severa de la hepatitis C.

**Objetivo:** evaluar si la medición repetida de la rigidez hepática (RH) durante el primer año del TH puede diferenciar precozmente a «fibrosadores» lentos y rápidos.

**Método:** Se incluyeron 66 pacientes receptores de TH entre agosto del 2004 y octubre del 2006: 52 pacientes infectados por el VHC y 14 trasplantados por otras etiologías (considerados controles). Se determinó la RH a los 3, 6, 9 y 12 meses después del THOSPITAL. Se realizó una biopsia hepática a los 12 meses del TH en todos los pacientes con infección por el VHC y se determinó el GPP en 49. Se definió «fibrosador» lento (F0-F1) y rápido (F2-F4) según el estadio de fibrosis al año del THOSPITAL.

**Resultados:** La biopsia mostró presencia de fibrosis F2-F4 en 23 (44%) pacientes y F0-F1 en 29 (56%). La mediana de la RH (kPa) a los 6, 9 y 12 meses fue significativamente superior en pacientes con  $F \geq 2$  (9,0; 9,5; 13,1) que en pacientes con  $F < 2$  (6,7; 7,6; 6,8) ( $p < 0,01$  en todos los puntos). Las diferencias de RH entre pacientes con  $GPP \geq 6$  o  $GPP < 6$  mmHg fueron aún más acentuadas. El incremento de la RH (kPa/mes) fue significativamente superior en pacientes con  $F \geq 2$  (0,66) o  $GPP \geq 6$  mmHg (0,67) que en pacientes con  $F < 2$  (0,03) o  $GPP < 6$  (0,01) ( $p < 0,01$  en ambos casos), lo que sugiere diferente velocidad en la progresión de la fibrosis. La combinación de las variables independientes de  $F \geq 2$  y  $GPP \geq 6$  mmHg (edad del donante, Alaninaminotransferasa y RH a los 6 meses del TH) aumentó la fiabilidad diagnóstica de la prueba, realizada a los seis meses del TH, para identificar pacientes con riesgo de desarrollar  $F \geq 2$  y/o  $GPP \geq 6$  mmHg (ABC: 0,85 y 0,91, respectivamente).

**Conclusión:** La medición precoz y repetida de la rigidez hepática en pacientes con recurrencia de la hepatitis C, permite diferenciar entre «fibrosadores» rápidos y lentos a partir de los primeros seis meses del THOSPITAL.

## LA DISTRIBUCIÓN GENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO -24C>T EN EL TRANSPORTADOR CANALICULAR ABCC2 NO ESTÁ RELACIONADA CON EL DESARROLLO DE TOXICIDAD HEPÁTICA INDUCIDA POR FÁRMACOS (DILI). RELEVANCIA DE SU VARIABILIDAD ÉTNICA EN LA POBLACIÓN EUROPEA

M.I. Lucena<sup>a</sup>, E. Crespo<sup>b</sup>, E. Ulzurrun<sup>a</sup>, F. Ruiz-Cabello<sup>c</sup>, Y. Borraz<sup>a</sup>, M.R. Cabello<sup>a</sup>, M.C. Fernandez<sup>d</sup>, G. Pelaez<sup>d</sup>, A. Madrazo<sup>e</sup>, M. Romero-Gomez<sup>e</sup>, A. Castiella<sup>f</sup>, H. Hachem<sup>g</sup>, J.M. Navarro<sup>h</sup>, R. Planas<sup>i</sup>, J. Costa<sup>j</sup>, J.F. Salmerón<sup>j</sup>, C. Guarner<sup>k</sup>, G. Soriano<sup>k</sup> y R.J. Andrade<sup>l</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Virgen de la Victoria. Facultad de Medicina. Málaga. España.

<sup>b</sup>Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Granada. España.

<sup>c</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Laboratorio de Inmunología. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. España.

<sup>d</sup>Servicio de Farmacología y Aparato Digestivo. Hospital Torrecárdenas. Almería. España.

<sup>e</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

<sup>f</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Mendar. Guipuzcoa. España.

<sup>g</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Morales Messeguer. Murcia. España.

<sup>h</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Costa del Sol. Marbella. Málaga. España.

<sup>i</sup>Unidad de Hepatología y Servicio de Farmacología Clínica.

Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

<sup>j</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

<sup>k</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>l</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Virgen de la Victoria. Facultad de Medicina. Málaga. CIBERehd. España.

**Objetivos:** El gen *ABCC2* —que codifica para la proteína resistente a multidrogas 2— juega un papel central en la excepción y detoxificación de aniones conjugados en el hígado. Se han identificado muchos polimorfismos en el gen *ABCC2*. El polimorfismo C-24T se asocia a una menor expresión de mRNA. Daly et al. (2007) y Haenisch et al. (2007) asociaron la presencia del alelo T en la posición -24 al riesgo de hepatotoxicidad por diclofenaco y al desarrollo de cáncer renal, respectivamente. Nuestro objetivo fue determinar si una alteración del transportador *ABCC2* de la membrana canalicular, encargado de la excreción biliar del metabolito reactivo, podría ser un factor de riesgo general en la susceptibilidad a desarrollar DILI. También comparamos la distribución del polimorfismo -24C > T *ABCC2* en nuestra población control con otras poblaciones Europeas.

**Métodos:** Se genotipó el polimorfismo -24C > T *ABCC2* (5'-UTR) en 124 pacientes con toxicidad hepática inducida por fármacos pertenecientes al Registro Nacional de Hepatotoxicidad (Andrade et al., Gastroenterology 2005) con una causalidad definida o probable según la escala de CIOMS. El grupo control estuvo constituido por 164 sujetos españoles sanos emparejados por edad y sexo. El genotipado se realizó mediante un ensayo de discriminación alélica 5' con sondas TaqMan.

**Resultados:** No se encontraron diferencias significativas en la distribución genotípica del polimorfismo C-24T al comparar toda la población DILI con los controles españoles y tampoco cuando el análisis se realizó para los principales grupos farmacológicos.

La frecuencia alélica de polimorfismo -24C > T *ABCC2* en población española fue de 0,72 y de 0,85 y 0,78 para los controles procedentes del Norte ( $n = 100$ ) y Centro de Europa ( $n = 164$ ), respectivamente.

Los portadores de los genotipos CC (52%) y CT (40%) en la población control española se diferenciaron significativamente de los controles portadores de los genotipos CC (72%) y CT (25%) del Norte de Europa ( $p = 0,002$  y  $p = 0,018$ , respectivamente). Las mismas diferencias se observaron al comparar los controles españoles con los genotipos CC (69%) y CT (25%) con los controles de Europa central ( $p = 0,003$  y  $p = 0,006$ , respectivamente). No se encontraron diferencias en la distribución genotípica entre la población del Norte y centro Europea.

**Conclusiones:** Nuestros datos sugieren que el polimorfismo -24C > T no está implicado en la susceptibilidad a desarrollar DILI. La frecuencia del polimorfismo -24C > T varía significativamente entre grupos étnicos siendo mucho más baja en Caucásicos españoles, lo que reflejaría una mezcla étnica de su población. Esto puede tener implicaciones en las diferencias interindividuales en la respuesta a fármacos.

Proyecto parcialmente financiado por el SAS PI-0082/2007 y Agencia Española del Medicamento.

## LA DURACIÓN DE LA SUPRESIÓN DEL ARN-VHC ES EL MEJOR PREDICTOR DE RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA EN PACIENTES VIH/VHC TRATADOS CON PEG-IFN Y RIBAVIRINA

C. Quereda<sup>a</sup>, F. Ferrere<sup>a</sup>, A. Moreno<sup>a</sup>, J.L. Casado<sup>a</sup>, M.J. Pérez-Eliás<sup>a</sup>, E. Navas<sup>a</sup>, M.L. Mateos<sup>b</sup>, F. Dronda<sup>a</sup>, J.M. Hermida<sup>a</sup> y S. Moreno<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

**Antecedentes:** La duración óptima del tratamiento con peg-IFN y RBV en pacientes VIH/VHC no está bien definida, aunque se han propuesto varios factores como predictores de RVS: genotipo VHC, dosis de RBV, niveles de ARN-VHC, y la duración del tratamiento. La hipótesis de este trabajo es que la duración de la supresión del ARN-VHC podría ser el factor más importante de RVS.

**Métodos:** De enero 2001-marzo 2006, 171 pacientes consecutivos VIH/VHC iniciaron su primer ciclo de peg-IFN $\alpha$ -2a (53%) o peg-IFN $\alpha$ -2b (47%) y RBV ajustada a peso. Fueron incluidos en el análisis 94 pacientes (55%) con respuesta al final del tratamiento (EOT). Se recogieron la duración del tratamiento, la semana en la cual se alcanzó ARN-VHC negativo, y la duración de la supresión viral durante el tratamiento. Se hizo análisis uni y multivariable para evaluar los factores independientes de RVS.

**Resultados:** 78% varones, mediana de edad, 41 años (28-63), ADVP 87%. La cifra basal de CD4, 513 céls/ml (45-1513). En los 94 pacientes con EOT, 61 (67%) el genotipo VHC era 2 o 3, y en 33 (33%) 1 o 4. Se alcanzó RVS en 78 (83%), y en 16 (17%) hubo recaída post-tratamiento (9 genotipo 2 o 3, 7 genotipo 1 o 4). En el análisis univariable, la RVS se asoció con la duración de la supresión viral ( $p = 0,001$ ), y los niveles basales de ARN-VHC (punto de corte 800,000 UI/mL) ( $p = 0,03$ ). No se encontró asociación con el genotipo VHC o la duración total del tratamiento. Tras análisis de regresión logística, sólo la duración de la supresión del ARN-VHC permaneció como factor independiente de RVS [RR 0,79; 95%CI 0,66-0,94,  $p = 0,008$ ]. La media ( $\pm$  DS) de duración de ARN-VHC negativo fue  $8,6 \pm 2,6$  meses en pacientes con RVS vs  $6 \pm 4,9$  meses en los pacientes con recaída, pero no pudo establecerse un punto de corte que pudiera distinguir de forma clara RVS de fracaso.

**Conclusiones:** En pacientes VIH/VHC tratados con peg-IFN y RBV ajustada a peso, el tiempo de ARN-VHC negativo fue el único factor independiente de RVS. Es necesario realizar más estudios para identificar cuál es el tiempo mínimo de supresión viral necesario para predecir con certeza la RVS.

## LA EFICACIA Y PROTECCIÓN EN LA ELIMINACIÓN DEL ANIÓN SUPERÓXIDO MITOCONDRIAL DEPENDE DEL NIVEL DE GSH

C. von Montfort, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad de Hepatología. ICMDiM-Hospital Clínic. CIBEREHD; IIBB-CSIC, IDIBAPS. Barcelona. España.

**Introducción y objetivo:** La mitocondria es el principal generador de radicales libres (RL), originados por el transporte de electrones al oxígeno en la fosforilación oxidativa, lo que genera anión superóxido (AS). La eliminación del AS por la superóxido dismutasa mitocondrial (Mn-SOD) constituye la primera línea de defensa frente a los RL. De hecho, una estrategia común en la defensa hepato-celular contra la generación mitocondrial de RL es el uso de miméticos de Mn-SOD con actividad dismutasa frente al AS. Sin embargo, la dismutación de AS origina agua peroxidada, un potente oxidante, cuyo destino metabólico es controlado por el ciclo redox del GSH mitocondrial. Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar

el papel del GSH mitocondrial en la eficacia y protección frente a la eliminación del AS.

**Métodos:** AS se generó en mitocondria hepática aislada o hepatocitos en cultivo mediante tratamiento con xantina/xantina oxidasa (X/XO) o antimicina A (AA), un inhibidor del complejo III de la cadena respiratoria, con o sin disminución previa del GSH mitocondrial con ácido etacrínico (AE), dietilmaleato (DEM) o 3-hidroxi-4-pentenoato (HP). Se utilizó Mn(III)TBAP como mimético de Mn-SOD para la eliminación de AS, analizando la formación de AS (DEH) y peróxidos (DCF) por fluorimetría, así como la permeabilización mitocondrial transitoria, liberación de citocromo c y supervivencia celular en respuesta a X/XO o AA.

**Resultados:** La incubación de mitocondrias con X/XO aumentó la fluorescencia de DEH y DCF, indicadores de formación de AS y peróxidos, respectivamente. La presencia de Mn(III)TBAP redujo la fluorescencia de DEH y de DCF, sin embargo la disminución de GSH mitocondrial por AE y exposición con Mn(III)TBAP resultó en una disminución de la fluorescencia de DEH pero un incremento en la de DCF. En estas circunstancias se observó una mayor permeabilización de la membrana mitocondrial y liberación de citocromo c al citosol. En cultivo primarios de hepatocitos, se observó que la administración de X/XO o AA indujo la generación de DEH y DCF, disminuyendo ambas tras tratamiento con Mn(III)TBAP. En paralelo con lo observado en mitocondria aislada, la disminución selectiva de GSH mitocondrial con HP resultó en un incremento de DEH y DCF tras AA o X/XO, efecto que se potenció tras el tratamiento con Mn(III)TBAP resultando en una liberación de citocromo c al citosol y activación de caspasa 3, resultando en una pérdida de la viabilidad celular.

**Conclusión.** El efecto protector de la defensa contra la generación de AS mitocondrial es estrictamente dependiente del nivel de GSH mitocondrial, cuya limitación genera un mayor grado de estrés oxidativo y muerte hepatocelular por acumulación de peróxidos derivados de la dismutación del AS.

## LA ESTEATOSIS HEPÁTICA EN NIÑOS OBESOS PREPÚBERES NO ESTÁ RELACIONADA CON LA RESISTENCIA A LA INSULINA (RI)

A. Ruiz Extremera<sup>a</sup>, A. Carazo<sup>b</sup>, A. Salmerón Ruiz<sup>c</sup>, J. Casado<sup>b</sup>, J. León<sup>b</sup>, J.M. Fernández<sup>a</sup>, M. Garófano<sup>c</sup>, E. Ocete<sup>a</sup>, A. Gila<sup>b</sup>, L. Sanjuán<sup>b</sup> y J. Salmerón<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Universitario «San Cecilio».

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd). Granada. España.

<sup>b</sup>Unidad de Aparato Digestivo. Hospital Universitario «San Cecilio». Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd). Granada. España.

<sup>c</sup>Radiología. Hospital Universitario «San Cecilio». Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd). Granada. España.

**Introducción y objetivo:** La teoría del doble impacto aceptada en los adultos está basada en la RI y determina la aparición de esteatosis. Esta teoría se aplica también en niños pero con menor base científica. El objetivo del estudio fue conocer los factores implicados en el desarrollo de esteatosis en niños prepúberes y adolescentes.

**Pacientes y métodos:** Se estudió a 56 niños obesos (IMC  $> p95$ ) entre 4-10 años (G1) y 71 con más de 10 años (G2). Se determinaron parámetros bioquímicos, RI por el método HOMA, marcadores de estrés oxidativo (peroxidación lipídica y nitritos en plasma), sistema antioxidante del glutatión (GSH, GSSG, GSHT, GPx y Grd intraeritrocitarios) y citoquinas plasmáticas (receptor de TNF $\alpha$ , TNF $\alpha$ , leptina, adiponectina, resistina, IL-6 y MCP-1). La esteatosis hepática fue valorada mediante ecografía por el mismo observador.

**Resultados:** En el G1, 20 (36%) de los niños presentaron una esteatosis y en G2, 37 (52%) ( $P = 0,06$ ). Al analizar el género, la esteatosis en niñas fue diferente entre los dos grupos: 28% (G1) frente a 54% (G2) ( $P < 0,05$ ), mientras que en los niños fue similar (43%, G1 vs 50%, G2). En el G1 no había diferencias estadísticamente significativas al analizar los niños sin esteatosis frente a la esteatosis en los siguientes parámetros: insulina ( $11,12 \pm 6,9$  vs  $10,45 \pm 3,5$ ), HOMA ( $2,29 \pm 1,4$  vs  $2,25 \pm 0,9$ ) y HOMA  $> 3,8$  (14 vs 11%). En cambio, los pacientes (G1) con esteatosis tenían menos tasa de hierro ( $P < 0,04$ ), GPx ( $P < 0,07$ ) y GRd ( $P < 0,001$ ) y más GSSG ( $P < 0,07$ ) y resistina ( $P < 0,007$ ). En la regresión logística la única variable que fue protectora frente a la esteatosis fue la mayor tasa de GRd [ $\hat{\theta} = 0,036$ , IC 95% (0,002; 0,687)  $P = 0,027$ ]. En el G2, las diferencias estadísticamente significativas entre no esteatosis y esteatosis fueron: insulina ( $14,5 \pm 4,3$  vs  $22,7 \pm 12$ ), HOMA ( $2,9 \pm 0,9$  vs  $4,7 \pm 2,5$ ) y HOMA  $> 3,8$  (12 vs 59%) ( $P < 0,001$ ). También los pacientes (G2) con esteatosis tenían más ALT ( $P < 0,001$ ), AST ( $P < 0,05$ ), triglicéridos ( $P < 0,004$ ), GSSG ( $P < 0,006$ ), GSHT ( $P < 0,03$ ), GSSG/GSH ( $P < 0,034$ ) y leptina ( $P < 0,019$ ). En la regresión logística las variables que se relacionaron con la esteatosis fueron el mayor HOMA [ $\hat{\theta} = 1,8$  IC 95% (1,1; 2,88)  $P = 0,001$ ] y GSSG [ $\hat{\theta} = 8,5$  IC 95% (1,8; 39,4)  $P = 0,006$ ]. Al comparar los niños con esteatosis del G1 frente a la esteatosis del G2, se demostró que G2 tenían más insulina ( $10,5 \pm 3,5$  vs  $22,7 \pm 12$ ), HOMA ( $2,2 \pm 0,9$  vs  $4,7 \pm 2,5$ ), HOMA  $> 3,8$  (12 vs 59%) ( $P < 0,001$ ) y menos IMC (Zscore) ( $P = 0,003$ ) y adiponectina ( $P < 0,008$ ). En la regresión logística la variable independiente entre la esteatosis del G1 y G2 fue el mayor HOMA [ $\hat{\theta} = 2,45$ , IC 95% (1,4; 4,3)  $P = 0,002$ ]. Por otro lado, existe una correlación entre la edad y HOMA (Rho Spearman: 0,511,  $P < 0,001$ ), pero no con el tiempo de evolución de la obesidad.

**Conclusión:** La resistencia a insulina no influye en la esteatosis hepática en los pacientes obesos prepúberes, mientras que a partir de los 10 años la RI es un factor determinante de la esteatosis, como se ha descrito en el adulto.

## LA MELATONINA ES CAPAZ DE REDUCIR LA PROGRESIÓN CELULAR EN LA LÍNEA DERIVADA DE HEPATOCARCINOMA HUMANO HEPG2

J. Martín-Renedo, J.L. Mauriz, S. Carbajo, O. Ruiz-Andrés, P. González y J. González-Gallego

*Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD) e Instituto de Biomedicina de León. León. España.*

**Introducción:** La melatonina es un indol sintetizado a partir del triptófano principalmente por la glándula pineal. Dicha molécula, dependiendo del tipo celular, parece tener efectos tanto pro- como anti-apoptóticos. Se ha descrito que la melatonina es capaz de reducir la proliferación celular en algunas líneas tumorales, sin embargo su efecto oncostático en el tratamiento del hepatocarcinoma no ha sido estudiado.

**Objetivo:** Analizar el potencial efecto de la melatonina sobre la proliferación, la apoptosis y la progresión del ciclo en células HepG2 derivadas de hepatocarcinoma humano.

**Metodología:** La melatonina fue añadida al medio de cultivo a diversas concentraciones, desde 100  $\mu\text{M}$  hasta 10.000  $\mu\text{M}$ , siendo administrada a diferentes tiempos: 2, 4, 6, 8, y 10 días. Se analizó la proliferación celular mediante el test de MTT y la liberación de LDH al medio. También se cuantificaron las vías intrínseca y extrínseca de la apoptosis y la progresión del ciclo celular mediante citometría de flujo.

**Resultados:** En el screening inicial observamos un efecto dosis y tiempo dependiente de la melatonina sobre la proliferación celular, siendo la concentración mínima efectiva la de 1000  $\mu\text{M}$  administrada durante 2 días. El tratamiento con 1000  $\mu\text{M}$  de melatonina

fue capaz de inducir la apoptosis, con un incremento en la actividad de la caspasa-3 y la proteólisis de PARP. El efecto proapoptótico de la melatonina se relacionó con la vía intrínseca, observando un aumento de la liberación mitocondrial de citocromo c, sobreexpresión de Bax e inducción de la caspasa-9. La melatonina también indujo un incremento de la actividad de la caspasa-8, aunque no cambió la expresión de Fas-L. El tratamiento modificó la progresión del ciclo celular, conduciendo a la detención del mismo en G2/M. La disminución de la proliferación y la alteración del ciclo celular fueron coincidentes con un aumento significativo en la expresión de las proteínas p53 y p21. Todos estos hallazgos fueron paralelos a la sobreexpresión de varios miembros de la familia de MAPK (JNK1-3 y p38) inducida por la administración de la melatonina.

**Conclusión:** La melatonina presenta un efecto antiproliferativo, citostático y pro-apoptótico en la línea HepG2. Estos resultados indican que la melatonina podría ser potencialmente útil en el tratamiento del hepatocarcinoma.

## LA MUERTE INDUCIDA POR FALLO HEPÁTICO AGUDO SE PUEDE RETRASAR O PREVENIR BLOQUEANDO EL RECEPTOR NMDA EN CEREBRO

O. Cauli, R. Rodrigo, J. Boix, B. Piedrafita, A. Agusti y V. Felipe

*Laboratorio de Neurobiología. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. España.*

El fallo hepático agudo (FHA) puede conducir rápidamente a un fallo multiorgánico y encefalopatía hepática y a la muerte de los pacientes si no reciben un trasplante. Sin embargo, el número de hígados disponibles no es suficiente y un número relevante de pacientes fallece antes de recibir un trasplante. El desarrollo de procedimientos que permitan retrasar los procesos por los que el FHA conduce a la muerte podría aumentar la supervivencia de los pacientes proporcionando tiempo adicional para recibir un hígado para trasplante o, en casos más leves, para la regeneración del propio hígado.

Uno de los principales factores que contribuyen a la muerte en FHA es la hiperamonemia. Nuestro grupo demostró hace años que la intoxicación aguda por dosis altas de amoníaco, que también conduce a la muerte, induce la activación en cerebro de los receptores de glutamato del tipo NMDA. Además, la muerte inducida por amoníaco se puede prevenir bloqueando los receptores NMDA con antagonistas. Pensamos que la activación de receptores NMDA por la hiperamonemia asociada al FHA podría contribuir también a la muerte en FHA y que, si esto fuera así, se podría prevenir o retrasar la muerte inducida por el FHA bloqueando los receptores NMDA. Los objetivos de este trabajo eran averiguar si: a) el FHA conduce a la activación del receptor NMDA en cerebro; b) bloqueando el receptor NMDA se puede prevenir o retrasar la muerte inducida por el FHA en ratas.

Hemos comprobado, por microdiálisis cerebral in vivo, que el FHA en ratas (inducido por inyección de galactosamina) conduce a la activación excesiva del receptor NMDA en cerebro. Además, el bloqueo del receptor NMDA por administración continua de los antagonistas MK-801 o memantina mediante mini-bombas osmóticas, aumenta al doble la supervivencia de los animales con FHA. Por otra parte, cuando el daño hepático no es 100% letal (ratas inyectadas con dosis bajas de galactosamina), el bloqueo del receptor NMDA aumenta el número de supervivientes del 23 al 62%. Estos resultados apoyan la idea de que el bloqueo del receptor NMDA con antagonistas selectivos puede tener utilidad terapéutica para aumentar la supervivencia de los pacientes con FHA bien porque permita la regeneración del hígado en casos menos severos o proporcionando tiempo adicional para conseguir un hígado para trasplante.



## LA PERSISTENCIA DE LA RESPUESTA VASODILATADORA PATOLÓGICA EN RATAS CON HIPERTENSIÓN PORTAL CRÓNICA (22 MESES) ES MEDIADA POR PROSTAGLANDINA I<sub>2</sub>

M.A. Aller<sup>a</sup>, J. Blanco-Rivero<sup>b</sup>, M. Ferrer<sup>b</sup>, M.P. Nava<sup>c</sup>, A. Cruz<sup>d</sup>, M. Losada<sup>d</sup>, G. Balfagón<sup>b</sup> y J. Arias<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Cirugía I. Facultad de Medicina. UCM. Cuenca. España.

<sup>b</sup>Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. UAM. Cuenca. España.

<sup>c</sup>Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II). Biológicas. UCM. Cuenca. España.

<sup>d</sup>Servicio de Cirugía General. Hospital Virgen de la Luz. Cuenca. España.

**Introducción y objetivo:** La hipertensión portal induce una respuesta vascular esplácnica y sistémica. El objetivo de éste estudio es evaluar el efecto de la hipertensión portal de larga evolución, tanto en la respuesta vasomotora al efecto vasoconstrictor de la noradrenalina, como en la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina, así como de los mecanismos implicados.

**Métodos:** En ratas pseudooperadas (PSO; n = 7) y ratas con hipertensión portal prehepática por triple ligadura parcial de la vena porta (TLVP; n = 8) a los 22 meses de evolución p.o. se ha estudiado la reactividad vascular aórtica analizando el efecto del óxido nítrico y los prostanoídes en respuesta a acetilcolina. Además, se midieron los niveles de óxido nítrico, tromboxano B<sub>2</sub> y 6-cetoprostaglandina F<sub>1α</sub>.

**Resultados:** La respuesta a noradrenalina fue similar en ambos grupos de ratas. La respuesta vasodilatadora a acetilcolina fue mayor en las ratas con hipertensión portal. La secreción y la respuesta a tromboxano A<sub>2</sub> y óxido nítrico fue similar en ambos grupos de ratas. La secreción de prostaglandina I<sub>2</sub> no fue modificada por la hipertensión portal, pero la respuesta vasodilatadora a este prostanoide, fue mayor en las ratas con hipertensión portal.

**Conclusiones:** En la hipertensión portal de larga evolución se mantiene la vasodilatación aumentada en respuesta a acetilcolina, que es mediada por prostaglandina I<sub>2</sub>. Estos resultados indican que en la hipertensión portal experimental de larga evolución son diferentes los mecanismos a través de los cuales se produce la respuesta vasodilatadora a acetilcolina respecto de los obtenidos en fases precoces.

## LA RESISTENCIA A LA INSULINA CORRELACIONA CON EL GRADIENTE DE PRESIÓN PORTAL (HVP) Y PREDICE EL RIESGO DE SANGRADO POR VARICES ESOFÁGICAS EN PACIENTES CIRRÓTICOS

M. Jover<sup>a</sup>, E. Hoyas<sup>a</sup>, D. Rincón<sup>b</sup>, I. Camacho<sup>a</sup>, O. Lo Lacono<sup>b</sup>, L. Grande<sup>a</sup>, R. Bañares<sup>b</sup> y M. Romero-Gómez<sup>b</sup>

<sup>a</sup>UGC Enfermedades Digestivas & CIBEREHD. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

<sup>b</sup>Digestivo y CIBEREHD. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

**Objetivos:** Evaluar la influencia de la resistencia a la insulina (RI) en la progresión de la hipertensión portal en pacientes cirróticos compensados.

**Pacientes y métodos:** Se incluyó a 115 pacientes cirróticos compensados consecutivos seguidos en consulta [85 hombres (72%), 33 mujeres (28%), 58 ± 10 años de edad y, etiología alcohólica 58 (51%), virus de la hepatitis C 34 (30,5%), virus de la hepatitis B 10 (8,5%) y otras causas 12 (11%)]. El grado de varices se observó mediante endoscopia: NIEC (F0 = 28; F1 = 36; F2 = 31 y F3 = 13). La función hepática se determinó mediante los índices de Child-Pugh (6,3 ± 1,5) y MELD (9,95 ± 4,9 puntos). Los niveles de insulina y glucosa en ayunas se midieron para el cálculo del HOMA= Insulina

(mUI/ml) \* glucosa (mmol/L) / 22,5. La glucagonemia se determinó por RIA. Los pacientes se siguieron cada 6 meses durante una media de 23,7 ± 13,9 meses hasta trasplante hepático, exitus o aparición de descompensaciones como hemorragia por varices, encefalopatía hepática, ascitis, síndrome hepatorrenal o cáncer hepático. En una cohorte de validación (n = 48) de cirróticos que no recibieron beta-bloqueantes a los que se les midió GPVH, determinamos el índice HOMA y los niveles de adiponectina y leptina.

**Resultados:** En 16 pacientes (13,9%) se observó hemorragia por varices (HV). En el análisis univariado se observó el índice de HOMA, el tamaño de las varices, la edad, glucagonemia y MELD como variables asociadas con el riesgo de sangrado por varices. Un índice de HOMA mayor que 4 fue fuertemente relacionado con la hemorragia (Kaplan-Meier: 9,02; p < 0,002). Además, el 28% de los pacientes con HOMA > 4 tuvieron sangrado por varices frente solo al 8% en pacientes con HOMA < 4. En el análisis multivariado empleando la regresión de backward LR, glucagonemia (p = 0,02), puntuación de Child-Pugh (p = 0,04), tamaño de varices esofágicas (p = 0,01) y el índice HOMA (p = 0,003) fueron independientemente asociadas con el riesgo de sangrado durante el seguimiento. En los pacientes cirróticos el índice HOMA correlacionó con el gradiente de presión portal (r = 0,30; p < 0,05). Los pacientes con HOMA > 4 mostraron un incremento del riesgo de HV (Kaplan-Meier: log-rank: 3,7; p < 0,05). Los niveles de adiponectina se asociaron con el grado de disfunción hepática (Child-Pugh (ug/ml) A: 4,9 ± 5,7; B: 18,7 ± 16,4; C: 29,3 ± 20,1; p < 0,001) y se correlacionaron con la presión portal (r = 0,68; p < 0,001). En el análisis multivariado incluyendo la función hepática, sexo, edad, HOMA, y adiponectina, las variables asociadas con el GPVH fueron los niveles de adiponectina y el HOMA r = 0,43; GPVH = 11,5 + (0,11\*adipo) + (0,146\*HOMA).

**Conclusiones:** La resistencia a la insulina parece estar fuertemente relacionada con la hipertensión portal y podría ser una nueva diana para el tratamiento de esta complicación. Agradecimientos: PI070425 ISCIII, Ministerio de Sanidad.

## LAS CÉLULAS BCLC-9 DERIVADAS DE CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC) HUMANO MUESTRAN FENOTIPO DE CÉLULA MADRE ADULTA TUMORAL Y UNA ELEVADA RESISTENCIA A DOXORUBICINA

L. Boix<sup>a,b</sup>, J.M. López-Oliva<sup>a</sup>, A. Forner<sup>a</sup>, M. Reig<sup>a</sup> y J. Bruix<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>BCLC Group. Unidad de Hepatología. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). IDIBAPS.

**Antecedentes:** La «hipótesis de la célula madre adulta tumoral» sugiere que los tumores contienen una población minoritaria de células madre adultas responsables del origen y mantenimiento de un tumor. El aislamiento e identificación de células madre adultas a partir de muestras de CHC humano, demostraría que éstas existen en el tumor y proporcionaría un instrumento de investigación relevante. Además, las células madre muestran una elevada resistencia a agentes citotóxicos, lo que impide la máxima eficacia de los tratamientos, la prevención de la recidiva tumoral y la potencial curación de la enfermedad.

**Objetivo:** Caracterizar la línea celular de CHC humano BCLC-9 y establecer su posible perfil de células madre adultas tumorales.

**Métodos:** En estudios previos demostramos el potencial carcinogénico y de auto renovación de BCLC-9 *in vivo*. Para completar su caracterización hemos realizado inmunofenotipado y ensayos de extrusión de drogas en células BCLC-9 correspondientes a pases tempranos y pases avanzados de cultivo.

**Inmunofenotipado** Se determinó la presencia de marcadores de célula madre: CD133, CD44, CD90, CD117, EpCAM, Oct3/4, Sox2,

Nanog y marcadores correspondientes a linaje hepatobiliar: Citoqueratinas 7, 8, 18 y 19 mediante inmunocitoquímica.

**Ensayos de extrusión y resistencia a doxorubicina** Se utilizó doxorubicina y rodamina123 para comprobar la funcionalidad de los transportadores ABC, la extrusión fue analizada por citometría de flujo. La resistencia de las células BCLC-9 a doxorubicina se determinó analizando el crecimiento celular a las 24, 48, 72 y 96 horas de tratamiento y diferentes concentraciones de la droga.

**Resultados:** BCLC-9 es positiva para los marcadores: CD133, CD44, CD117, EpCAM, Oct3/4, Sox2 y Nanog y para los marcadores: CK7, 8, 18, y CK19. En los primeros pases, el 50% de las células son CD133 positivas mientras que la tinción es homogénea en los pases avanzados. No hay diferencias en intensidad y porcentaje de positividad para el resto de marcadores celulares.

Las células BCLC-9 eliminan activamente tanto rodamina123 como doxorubicina, mecanismo que es bloqueado mediante verapamil, un inhibidor de los transportadores ABC. Los pases tardíos muestran una mayor capacidad de extrusión de rodamina123 y doxorubicina y, en consecuencia, exhiben una mayor resistencia a doxorubicina (hasta 10 veces superior) respecto a pases iniciales.

Además, las células BCLC-9 de pases avanzados muestran la capacidad de formar esferoides tumorales sin necesidad de recurrir al uso de estructuras artificiales.

**Conclusión:** Estos resultados demuestran que las células BCLC-9, tanto los primeros pases como los pases avanzados de cultivo, son las primeras células tumorales humanas con fenotipo de célula madre adulta. Además de sus características fenotípicas específicas son capaces de formar esferoides tumorales por lo que la línea celular BCLC-9 constituye un modelo in vitro fundamental para el estudio del potencial citotóxico de nuevas drogas.

### LAS PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS Y SU SEÑALIZACIÓN ESTÁN AUMENTADAS SIGNIFICATIVAMENTE EN MODELOS EXPERIMENTALES DE CIRROSIS E HIPERTENSIÓN PORTAL

A. de Gottardi, M. Mejías, E. García-Pras, A. Rodríguez-Vilarrupla, J.C. García-Pagán, M. Fernández y J. Bosch

Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic-IDIBAPS. Ciberehd. Barcelona. España.

**Introducción:** Las proteínas morfogenéticas óseas (*bone morphogenetic proteins*, BMPs) pertenecen a la familia del TGF- $\beta$  y están implicadas en diversos procesos, como la angiogénesis y el control del tono vascular, que también desempeñan un papel central en la regulación de la hipertensión portal. Sin embargo, no existen datos sobre la presencia y distribución de las BMPs en la cirrosis y la hipertensión portal.

**Métodos:** Se indujo cirrosis experimental en ratas mediante ligadura+sección del colédoco (BDL) durante 4 semanas, o mediante inhalación de tetracloruro de carbono (CCl4) durante 12 semanas. Se utilizó ligadura parcial de la vena porta (PPVL) como modelo de hipertensión portal prehepática.

El aislamiento de RNA total y la transcripción inversa, así como la extracción de proteínas y la preparación de muestras para histología fueron efectuados utilizando kits comerciales y métodos convencionales. La expresión de las BMPs, de sus receptores y de proteínas de transducción de la señal intracelular se analizó mediante PCR cuantitativa (*low density arrays*), western blot e inmunohistoquímica.

**Resultados:** El análisis cuantitativo de la expresión proteica (western blot) confirmó un aumento relativo de BMP4 ( $2,5 \pm 0,7$  veces,  $p = 0,024$ ) y de ID2 ( $1,6 \pm 0,2$  veces,  $p = 0,025$ ) en el hígado de las ratas BDL. La inmunohistoquímica mostró la presencia de BMP4 en hepatocitos y células endoteliales hepáticas. La expresión del efector intracelular Smad 1, ni su fosforilación, fueron significativamente diferentes en hígados de ratas cirróticas (BDL o CCL4) en comparación con ratas control.

A nivel esplácnico, se observó un aumento significativo de la expresión del mRNA de BMP4 en la arteria mesentérica de ratas PPVL (2,3 veces,  $p = 0,009$ ). Además, mediante inmunohistoquímica se localizó expresión de ID2 en el endotelio y el músculo liso vascular de vasos sanguíneos mesentéricos.

**Conclusiones:** La vía de señalización de las BMPs está activada en modelos de cirrosis e hipertensión portal en ratas. Esta activación parece independiente de la fosforilación de Smad y podría jugar un papel funcional relevante.

### LAS SUSTITUCIONES DE AMINOÁCIDOS EN EPITOPOS INMUNODOMINANTES HLA-I RESTRINGIDOS DEL VHC SE DEBEN A LA PRESIÓN INMUNOLÓGICA SELECTIVA

S. Benito<sup>a</sup>, J.R. Larrubia<sup>a,b</sup>, J. Miquel<sup>b</sup>, M. Calvino<sup>a</sup>, E. Sanz de Villalobos<sup>b</sup>, M.L. García-Buey<sup>c</sup>, F. González-Mateos<sup>b</sup>, A. González-Praetorius<sup>d</sup> y T. Parra<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Investigación. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

<sup>b</sup>Sección de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

<sup>c</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de «La Princesa». Madrid. Universidad Autónoma de Madrid. España.

<sup>d</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

**Introducción:** La sustitución de aminoácidos (aa) en epitopos HLA-I restringidos del VHC podría permitir la evasión viral de la respuesta inmune. No está claro si estas mutaciones de escape son resultado de la deriva genética o de la presión inmunológica selectiva. Por ello analizamos la aparición de mutaciones en distintas regiones de un epitopo inmunodominante del VHC (residuos de anclaje al HLA, sitio de reconocimiento por el receptor de la célula T [RCT] y otras posiciones).

**Material y métodos:** Se analizó a 15 pacientes HLA-A2(+) con hepatitis C crónica (HCC) genotipo 1. Se estudió el epitopo NS3 1406-1415 (KLVALGINAV) tras amplificación por PCR anidada. Se realizó una transcripción inversa del ARN del VHC previamente ex-

TABLA 1 Expresión del mRNA de los principales efectores de la vía de señalización de las BMPs, relativa al hígado normal (n = 3):

	BMP4	BMP6	BMP7	BMPR2 receptor	Alk-1 receptor	Smad1	ID2
Hígado BDL	12,9 (7,7-21,6) p = 0,002	2,1 (1,7-2,6) p = 0,064	5,8 (2,6-12,9) p = 0,064	4,1 (2,4-6,9) p = 0,038	1,4 (0,9-2,2) p = 0,305	1,8 (1,0-3,3) p = 0,274	4,5 (2,9-6,8) p = 0,018
Hígado CCL4	16,6 (13,8-20,0) p = 0,002	3,5 (2,9-4,4) p = 0,016	2,3 (1,9-2,9) p = 0,026	1,45 (1,44-1,47) p = 0,042	3,0 (2,3-4,0) p = 0,011	1,46 (1,41-1,51) p = 0,066	2,7 (1,5-4,7) p = 0,104

traído del suero con kit comercial de extracción en columna. La primera amplificación se llevó a cabo usando los cebadores NS3-5 (5'-ACGTACTCCACCTACGGCAA-3') y NS3-6 (5'-AAGGTAGGGTCA-AGGCTGAA-3'). Los productos obtenidos se usaron para una segunda amplificación usando los cebadores NS3-7 (5'-CATCCCAACATCGAGGAGGT-3') y NS3-8 (5'-TTG CAGTCTATCACCAGATC-3'). Se obtuvo una sola banda de 289pb en gel de agarosa 3%. Los productos finales se purificaron y secuenciaron con el secuenciador 377 DNA de Applied Biosystems. Se usó el test de Fisher para comparar la frecuencia de sustituciones de aa en las distintas regiones con respecto al epitopo «wild-type». Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ .

**Resultados:** No se encontraron variaciones de aa en los principales residuos de anclaje al HLA-A2 (KL<sup>VALGINAV</sup>) (0 de 30 aa; 0%). Sin embargo las variaciones de aa fueron frecuentes en el lugar principal de interacción del HLA-A2 con el RCT (KL<sup>VALGINAV</sup>) (8 de 45 aa; 18%) ( $p < 0,01$ ). Estas sustituciones de aa fueron A1409T, A1409G, y L1410M. Además se detectaron sustituciones de aa en lugares secundarios de interacción de HLA-A2 con el RCT (KL<sup>VALGINAV</sup>) (9 de 30 aa; 30%) ( $p < 0,01$ ). Estas mutaciones fueron I1412L e I1412V. Finalmente solo se detectó una sustitución en el resto de posiciones del epitopo (KL<sup>VALGINAV</sup>) (1 de 45 aa; 2%).

**Conclusiones:** Los datos muestran evidencias estadísticas que apoyan el papel de la presión inmunológica selectiva de las células T CD8(+) como causa de mutaciones en el epitopo HLA-A2 restringido NS3 1406-1415. Es poco probable que estas sustituciones de aa ocurran al azar debido a la preferencia de aparición de las mutaciones en los sitios principales y secundarios de interacción del complejo HLA-A2/péptido con el RCT.

## LOS EFECTORES DEL AMP CÍCLICO EPAC Y PKA ESTÁN IMPLICADOS EN LA CISTOGÉNESIS HEPÁTICA DE UN MODELO ANIMAL DE ARPKD

J.M. Banales<sup>a,b</sup>, T.V. Masyuk<sup>a</sup>, S.A. Gradilone<sup>a</sup>, A.I. Masyuk<sup>a</sup>, J.F. Medina<sup>b</sup> y N.F. LaRusso<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro Miles y Shirley Fiterman para el estudio de las Enfermedades Digestivas. División de Gastroenterología y Hepatología. Clínica Mayo Colegio de Medicina. Rochester. MN. Estados Unidos.

<sup>b</sup>División de Terapia Génica y Hepatología. CIMA-CUN. Escuela de Medicina. Universidad de Navarra y CIBERhd. Pamplona. España.

**Introducción:** En el modelo animal de enfermedad renal poliquística autosómica recesiva (*autosomal recessive polycystic kidney disease*, ARPKD), i.e. las ratas PCK, se desarrollan quistes biliares derivados de colangiocitos asociados con un incremento en los niveles intracelulares de adenosina 3',5'-monofostato cíclico (cAMP), cuya inhibición suprime el crecimiento de los quistes.

**Objetivos:** Estudiar si la elevación de cAMP observada en los colangiocitos de las ratas PCK se asocia con un aumento en la proliferación a través de dos efectores intracelulares, las proteínas intercambiadoras dependientes de cAMP (*exchange proteins activated by cAMP*, Epac1 y Epac2) y la proteína quinasa A (*protein kinase A*, PKA), así como analizar si los niveles intracelulares de calcio participan también en este proceso.

**Resultados:** Los colangiocitos normales de rata expresan las isoformas de Epac (Epac1 y Epac2) así como las subunidades reguladoras de PKA (PKA-Rs) a nivel de mRNA y proteína. Además, se observó que la expresión tanto de Epac1 y Epac2, como de la subunidad PKA Riβ se encuentra elevada en colangiocitos PCK. El estudio de proliferación de colangiocitos tras activación de Epac o PKA mostró que tanto los colangiocitos normales como los PCK aumentan su proliferación tras estimulación específica de Epac con un análogo del cAMP. En cambio, la estimulación específica de

PKA mostró efectos diferenciados, suprimiendo la proliferación de los colangiocitos normales pero acelerando este proceso en los colangiocitos PCK. Por otro lado, utilizando el modelo de «estructuras quísticas» generado mediante el cultivo de colangiocitos (normales y PCK) en tres dimensiones (3-D), se observó que tanto la activación de Epac como la de PKA producen un incremento en el crecimiento de los quistes, especialmente en los quistes derivados de colangiocitos PCK. La utilización de inhibidores farmacológicos específicos, o bien el silenciamiento génico mediante siRNAs, demostraron la especificidad de la activación de cada efector, así como el papel de la vía de señalización MEK-ERK1/2 en todos los cambios proliferativos observados. La hiper-proliferación de los colangiocitos PCK en respuesta a la estimulación de PKA, pero no tras la estimulación de Epac, está asociada con un descenso en los niveles intracelulares de calcio, y su restauración bloquea la proliferación dependiente de PKA, a través de la vía de señalización PI3K/AKT.

**Conclusiones:** Nuestros hallazgos aportan sólidas evidencias de que ambos efectores del cAMP, Epac y PKA, así como los niveles intracelulares de calcio están implicados en la cistogénesis hepática de ARPKD.

## LOS HEPATOCITOS DE RATA CIRRÓTICA CON ASCITIS EXPRESAN EL RECEPTOR PROFIBROGÉNICO CB1. ESTUDIO EN CULTIVO PRIMARIO DE CORTA DURACIÓN

G. Òdena<sup>a,b,c</sup>, R. Bartolí<sup>a,b,c</sup>, R.M. Morillas<sup>a,c</sup>, M. Miquel<sup>c</sup>, M. Sala<sup>a</sup> y R. Planas<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Germans Trias y Pujol. Badalona. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Fundación Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud Germans Trias y Pujol. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd).

**Introducción:** El sistema endocannabinoide de señalización está implicado en la progresión de la fibrosis a cirrosis ya que el receptor de cannabinoides CB1 está presente y aumentado en células de Kupffer y células estrelladas de hígados cirróticos. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha descrito la presencia de este receptor en hepatocitos, así como su posible papel en la progresión de la fibrosis.

**Objetivo:** Determinar la expresión del receptor de cannabinoides CB1 en un cultivo primario de corta duración de hepatocitos de rata y compararla entre hepatocitos de hígados normales y de hígados cirróticos.

**Material y métodos:** Se indujo cirrosis por tetracloruro de carbono a 4 ratas Sprague-Dawley machos. Cuatro animales más actuaron de controles. Se aislaron los hepatocitos mediante la técnica de perfusión con collagenasa y se cultivaron un millón de células en frascos recubiertos de colágeno durante 3 días. Se extrajeron las proteínas totales de cada cultivo y se determinó la expresión de CB1 mediante un ensayo Western blot ajustando los resultados a la expresión de β-actina.

**Resultados:** En los hepatocitos obtenidos, la cantidad ( $5,3 \times 10^6$  células [ $4,5 \times 10^6$ - $6,02 \times 10^6$ ] frente a  $2,4 \times 10^6$  células [ $1,9 \times 10^6$ - $2,9 \times 10^6$ ];  $p = 0,021$ ) y la viabilidad (91% [ $87,7$ - $94,2$ ]; frente a 81,5% [ $78,5$ - $84,5$ ];  $p = 0,029$ ) fue significativamente superior en el grupo de ratas control respecto a las ratas cirróticas. La expresión de CB1 fue positiva en todas las ratas controles y en 3 de las 4 ratas cirróticas. La expresión fue muy variable sin diferencias entre grupos.

**Conclusiones:** Se demuestra, por primera vez, que los hepatocitos en cultivo primario de corta duración expresan el receptor de cannabinoides CB1 y esta expresión es variable independientemente de si provienen de hígados normales o cirróticos.

## MARCADORES TISULARES DEL PROCESO DE ANGIOGÉNESIS Y EVOLUCIÓN DEL HEPATOCARCINOMA DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

A. Campillo Arregui<sup>a</sup>, M.J. Morandeira García<sup>b</sup>, T. Castiella Murduzabal<sup>b</sup>, C. Sostres Homedes<sup>a</sup>, S. Lorente Pérez<sup>c</sup>, A. García Gil<sup>d</sup> y M.T. Serrano Aulló<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Aparato Digestivo. HCU Lozano Blesa. España.

<sup>b</sup>Servicio de Anatomía Patológica. HCU Lozano Blesa. España.

<sup>c</sup>Unidad de Aparato Digestivo. Hospital San Jorge. Huesca. España.

<sup>d</sup>Servicio de Cirugía General. HCU Lozano Blesa. España.

**Introducción:** La indicación de trasplante hepático en los pacientes con hepatocarcinoma (HCC) sigue siendo un tema controvertido ya que los sistemas de estadiaje actuales no tienen un valor pronóstico suficientemente bueno. Estudios recientes indican la posible existencia de marcadores tisulares fundamentalmente relacionados con la proliferación y la angiogénesis que podrían tener un papel pronóstico.

**Objetivos:** Estudiar si la expresión de VEGF, COX-2 y la densidad microvascular (DMV), se relacionan con una mayor extensión del tumor y con la aparición de recidiva.

**Métodos:** Mediante inmunohistoquímica, se estudió la expresión de CD34, VEGF y COX-2 en el tejido tumoral y peritumoral de 35 HCC obtenidos tras un trasplante hepático. Además se usaron como controles 10 hígados con cirrosis sin tumor y 5 cuñas de los implantes obtenidas durante la cirugía de banco. La tinción de COX-2 y VEGF fueron valoradas por un anatomopatólogo siguiendo una escala semicuantitativa. La DMV fue evaluada mediante CD34 que se cuantificó con un sistema morfométrico mediante el programa informático ContimUZ en las áreas calientes del tumor. Se analizaron la recidiva tumoral y supervivencia de los pacientes, con un seguimiento mínimo de 24 meses. Los datos obtenidos fueron estudiados con el paquete estadístico SPSS.

**Resultados:** La COX2 en el tejido cirrótico peritumoral de los pacientes con HCC estaba incrementada de forma significativa con respecto a la expresada en los pacientes con cirrosis sin HCC. El VEGF en el tejido peritumoral, pero no en el tumoral, estaba incrementado en los explantes de los pacientes que presentaron recidiva con respecto a los que no recidivaron. Una expresión de esta proteína en más del 50% de las células peritumorales se relaciona significativamente con la aparición de recidiva ( $p = 0,010$ ). El aumento de esta proteína en el tejido peritumoral, se asoció así mismo, con factores anatomopatológicos de extensión tumoral. Sin embargo, ni la COX2 ni la densidad vascular del tejido tumoral demostraron asociación con ningún factor anatomopatológico ni con la recidiva tumoral.

**Conclusión:** Una mayor expresión de VEGF en el tejido peritumoral se relaciona con la presencia de hepatocarcinoma avanzado y con una mayor probabilidad de recidiva.

## MAYOR SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO HEPÁTICO POR LPS EN RATONES TRANSGENICOS TG-SREBP-2

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

Unidad de Hepatología. ICMDiM-Hospital Clínic. CIBEREHD. IIBB-CSIC. IDIBAPS. Barcelona. España.

**Introducción:** La esteatohepatitis (EH), tanto alcohólica (EHA) como no alcohólica (EHNA), es una de las principales causas de muerte en los países occidentales. Estudios recientes identifican al acúmulo de colesterol, particularmente en la mitocondria, como un factor clave en la progresión de la esteatosis a EH y a estadios más avanzados de la enfermedad (ej. cirrosis y hepatocarcinoma). El factor de transcripción SREBP2 (Sterol Regulatory Element Bin-

ding Protein-2), activa genes implicados en la síntesis y captación del colesterol. Por tanto, niveles elevados de SREBP2 podrían estar implicados en la progresión de la enfermedad.

**Objetivo:** Estudiar el papel del colesterol en ratones transgénicos que sobreexpresan el factor de transcripción SREBP2 (tg-SREBP2) en la susceptibilidad hepática a alcohol y LPS.

**Métodos:** Ratones Tg-SREBP2 y salvajes B6SJLF1/J fueron alimentados durante 4 semanas con dieta líquida alcohólica Lieber DeCarli, y posterior exposición a LPS (5 mg/Kg) 24 horas antes de ser sacrificados. El daño hepático se evaluó por transaminasas en suero e histología. Se analizaron los niveles de colesterol, triglicéridos y ácidos grasos libres. La mitad de los animales en estudio recibieron una dosis diaria de atorvastatina (10 mg/Kg) durante 10-15 días.

**Resultados:** Los animales Tg-SREBP2 muestran un incremento en el nivel hepático de colesterol (esterificado y libre), y en particular, del colesterol mitocondrial, que se correlaciona con la disminución del nivel de GSH mitocondrial. Los ratones Tg-SREBP-2 expuestos a LPS, mostraron un incremento de 4 veces respecto a los salvajes en la liberación de transaminasas al suero. El consumo crónico de alcohol sensibilizó a los salvajes al LPS, pero no incrementó el daño observado tras LPS en animales transgénicos. El tratamiento con atorvastatina, redujo los niveles de colesterol hepático esterificado y libre, y previno la disminución del nivel de GSH mitocondrial, resultando en menor daño hepático medido por transaminasas e histología tras consumo de alcohol o exposición al LPS.

**Conclusión:** El aumento de los niveles de colesterol, en particular en la mitocondria, que se observa en ratones transgénicos Tg-SREBP2 sensibiliza al daño hepático producido por endotoxina y consumo crónico de alcohol. Estos datos confirman el papel clave del colesterol mitocondrial en el desarrollo de EH debido, en parte, a la disminución del GSH mitocondrial.

## MECANISMO MOLECULAR DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN EL HÍGADO DURANTE EL ENVEJECIMIENTO: PAPEL DE LA PTP1B

A. González-Rodríguez<sup>a,b</sup>, J.A. Gutiérrez-Mas<sup>c</sup>, M. Ros<sup>c</sup>, J.M. Carrascosa<sup>d</sup> y A.M. Valverde<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (CSIC/UAM). Madrid. España.

<sup>b</sup>CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas. ISCIII. Madrid. España.

<sup>c</sup>Departamento de Ciencias de la Salud III. Universidad Juan Carlos I. Madrid. España.

<sup>d</sup>Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España.

Durante el envejecimiento se produce una pérdida de la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos. Dado que la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) es un modulador negativo de las acciones de la insulina en el tejido hepático, en este estudio hemos investigado el papel de la PTP1B en la sensibilidad a la insulina en el hígado durante el envejecimiento. Para ello, empleamos ratones viejos (15 meses) y ratones jóvenes (3 meses) de los genotipos salvaje (PTP1B<sup>+/+</sup>) y deficientes en PTP1B (PTP1B<sup>-/-</sup>).

Los ratones viejos presentaron una disminución significativa de la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en comparación con los jóvenes. Además, los ratones viejos presentaban aumentada la masa de tejido adiposo blanco con respecto a los jóvenes. Tras la inyección i.p. de insulina, la actividad PI 3-quinasa asociada a IRS-1 e IRS-2, así como la fosforilación de Akt y Foxo1 se encontraban disminuidas en el hígado de ratones viejos en comparación con los jóvenes. Por tanto, los hepatocitos procedentes de los ratones viejos presentaron disminuida la respuesta a la in-

ulina en la inhibición de los mRNAs de los enzimas gluconeogénicos PEPCK y G6Pasa en comparación con los jóvenes. Curiosamente, la expresión de PTP1B se encontraba aumentada en el hígado de los ratones viejos en comparación con los jóvenes a nivel de mRNA y cantidad de proteína. Además, durante el envejecimiento la actividad enzimática de la PTP1B aumentaba de manera significativa. Los ratones viejos PTP1B<sup>-/-</sup> presentaban una marcada hipersensibilidad a la insulina y tolerancia a la glucosa durante el envejecimiento en comparación con los ratones viejos controles. Además, la pérdida de PTP1B protegía frente al aumento de adiposidad durante el envejecimiento. A nivel molecular, la activación de la ruta IRS-1,-2/PI 3-quinasa/Akt/Foxo1 en respuesta a la inyección de insulina se encontraba aumentada el hígado de los ratones PTP1B<sup>-/-</sup> viejos en comparación con los controles. En consecuencia, los hepatocitos primarios procedentes de ratones viejos PTP1B<sup>-/-</sup> presentaban una hipersensibilidad a la insulina en relación con la inhibición de los enzimas gluconeogénicos PEPCK y G6Pasa en comparación con los controles. Nuestros resultados demuestran que la activación de la PTP1B es un componente esencial en la resistencia a la insulina en el hígado durante el envejecimiento.

#### MIOCARDIOPATÍA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA. FRECUENCIA, CARACTERÍSTICAS Y RELACIÓN CON LA DISFUNCIÓN CIRCULATORIA Y EL PRONÓSTICO

A. Nazar<sup>a,b,c</sup>, M. Sitges<sup>d</sup>, M. Guevara<sup>a,b,c</sup>, C. Terra<sup>a,b,c</sup>, M. Marinelli<sup>a,b,c</sup>, F.P. Villa<sup>d</sup>, M. Martín-Llahí<sup>a,b,c</sup>, M.E. Baccaro<sup>a,b,c</sup>, J.C.G. Pagán<sup>a,b,c</sup>, M. Pavesi<sup>a,b,c</sup>, S. Poyatos<sup>d</sup>, V. Arroyo<sup>a,b,c</sup> y P. Ginès<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>b</sup>IDIBAPS. Barcelona. España.

<sup>c</sup>CIBERehd. Ciber de Enfermedades Hepáticas y Digestivas. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Servicio de Cardiología. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona. España.

Estudios recientes han descrito una alteración miocárdica típica de la cirrosis que se caracteriza fundamentalmente por disfunción diastólica. No obstante, la frecuencia de esta alteración y su relevancia clínica en la historia natural de la cirrosis se desconocen. El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de miocardiopatía, su relación con la disfunción circulatoria y su posible impacto sobre la evolución de los pacientes con cirrosis. Se estudiaron de forma prospectiva 102 pacientes consecutivos (71 hombres / 31 mujeres; 56 ± 11 años, media ± DE) con cirrosis en diferentes fases de la enfermedad (Child-Pugh A 26, B 39 y C 37). Se realizó un ecocardiograma Doppler convencional con Doppler tisular en el que se determinaron las dimensiones de las cavidades cardíacas, la función sistólica y diastólica ventricular y se estimó la presión capilar pulmonar. La disfunción diastólica se clasificó en una escala de 0 a 4 en base a criterios internacionales bien establecidos (American Society of Echocardiography). En 85 pacientes se determinó, además, los niveles plasmáticos de hormonas vasoactivas y en 54 se realizó un cateterismo hepático y cardíaco derecho. Los pacientes fueron seguidos durante un período mínimo de 6 meses. Dos pacientes fueron excluidos por valvulopatía severa. Las dimensiones y la fracción de eyección (63 ± 8%) del ventrículo izquierdo fueron normales. Se observó disfunción diastólica en el 57% de los pacientes (41% grado 1 y 16% grado 2). Estos pacientes mostraron presión capilar pulmonar mayor que los pacientes sin disfunción diastólica (8 ± 3, 10 ± 3, y 14 ± 6 mmHg, sin y con disfunción diastólica grados 1 y 2, respectivamente; p < 0.001). En comparación con los pacientes sin disfunción diastólica o con dis-

función diastólica grado 1, los pacientes con disfunción diastólica grado 2 presentaron una insuficiencia hepática más severa (Child-Pugh 8 ± 2 vs 10 ± 2 y MELD 14 ± 6 vs 20 ± 11, respectivamente, p < 0,05), una disfunción circulatoria más intensa (resistencias vasculares sistémicas: 877 ± 330 vs 626 ± 151 din/seg/cm-5, p < 0,05; gasto cardíaco: 9 ± 3 vs 10 ± 2, p = 0,07; noradrenalina plasmática: 338 ± 233 vs 620 ± 646 pg/ml, p < 0,0001) y unos niveles plasmáticos más elevados de factor natriurético atrial (42 ± 32 vs 64 ± 49 fmol/ml, p < 0,01) y péptido natriurético cerebral (54 ± 76 vs 91 ± 94 pg/ml; p < 0,07). La frecuencia de disfunción diastólica grado 2 fue de 8, 11 y 28% en los pacientes del grupo A, B y C de Child-Pugh, respectivamente (p < 0,05). La supervivencia libre de trasplante a los 6 meses fue significativamente inferior en los pacientes con disfunción diastólica grado 2 en comparación con el resto de los pacientes (25 vs 61%, p < 0,01). En conclusión, la miocardiopatía es frecuente en los pacientes con cirrosis, en especial en aquellos con insuficiencia hepática avanzada. La presencia de disfunción diastólica grado 2 se asocia con una mayor severidad de la enfermedad hepática, mayor disfunción circulatoria y peor pronóstico.

#### NIVELES SÉRICOS DE IL-23 E IL-17 EN EL RECHAZO CELULAR DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

E. Fábrega<sup>a</sup>, M. López-Hoyos<sup>b</sup>, D. San Segundo<sup>b</sup>, F. Casafont<sup>a</sup> y F. Pons-Romero<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

<sup>b</sup>Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

**Introducción y objetivo:** El equilibrio Th1/Th2 se ha empleado habitualmente para explicar los mecanismos inmunopatológicos implicados en la respuesta alorreactiva del trasplante hepático (TH). Recientemente se ha descrito un nuevo tipo de célula T CD4+, las células Th17 que podrían participar en el rechazo celular (RC) de los aloinjertos. Las células Th17 secretan diversas citocinas entre las que destaca IL-17 y que es la que las define. La inducción de estas células depende de la señal generada por diversas citocinas, entre las que destaca IL-23. Hasta el momento no existen evidencias del papel de las células Th17 en TH humano. El objetivo de nuestro estudio ha sido investigar si IL-23 e IL-17 se elevan en el RC del TH humano.

**Métodos:** Se incluyeron prospectivamente 50 pacientes sometidos a TH sin complicaciones vasculares ni infecciosas. Se dividieron en dos grupos: 15 pacientes con RC y 35 sin RC. Se analizaron IL-23 e IL-17 en los días 1, 7 del postoperatorio del TH y en el día de la biopsia hepática. Como grupo control se incluyeron 20 sujetos sanos.

**Resultados:** La concentración de IL-23 fue similar en los pacientes con RC respecto a los pacientes sin RC en el postoperatorio inmediato. Sin embargo, objetivamos un incremento significativo de los niveles de IL-23 en los pacientes con RC en el momento del diagnóstico del mismo. El comportamiento de IL-17 fue similar, con un aumento significativo de sus niveles en el grupo de pacientes con RC en el momento de su diagnóstico. Además, al analizar todos los pacientes incluidos en el estudio comprobamos que los niveles séricos de IL-23 e IL-17 fueron significativamente superiores en todos los tiempos respecto al grupo control.

**Conclusiones:** En los pacientes con RC se produce un incremento significativo en los niveles circulantes de IL-23 e IL-17 en el momento de su diagnóstico. Por tanto, nuestros resultados sugieren que las células Th17 podrían participar en el RC del TH humano.

## OPTIMIZACIÓN DEL CULTIVO DE LÍQUIDO ASCÍTICO EN EL CONTEXTO CLÍNICO DE LA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA

B. Merino Rodríguez<sup>a</sup>, O. Núñez Martínez<sup>a,b</sup>, A. Díaz Sánchez<sup>a,c</sup>, J.A. Pajares Díaz<sup>a</sup>, A. Huerta Madrigal<sup>a</sup>, A. Matilla Peña<sup>a</sup>, R. Bañares Cañizares<sup>a</sup> y G. Clemente Ricote<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

<sup>b</sup>Servicio de Digestivo. Hospital Infanta Sofía. SS Reyes. Madrid. España.

<sup>c</sup>Servicio de Digestivo. Hospital Infanta Leonor. Madrid. España.

**Introducción y objetivos:** La peritonitis bacteriana espontánea (PBE) es la infección del líquido ascítico en ausencia de foco infeccioso intraperitoneal en pacientes con enfermedad hepática e hipertensión portal. El método adecuado para el cultivo de líquido ascítico (LA) es su inoculación en frascos de hemocultivos a la cabecera del paciente. El objetivo del estudio fue valorar la rentabilidad del cultivo del LA con la inoculación de un volumen de 5ml frente a 10ml en práctica clínica habitual.

**Material y métodos:** Se analizaron de manera retrospectiva los datos provenientes de las historias clínicas de 158 episodios consecutivos de PBE en pacientes cirróticos durante el periodo de enero de 2003 a diciembre de 2005, en los que se realizó de forma sistemática la recogida de cultivos de LA con 5ml por bote de hemocultivo (grupo 1). Este grupo de pacientes ha sido comparado con un grupo prospectivo desde octubre de 2007 a octubre de 2008, constituidos por un total de 85 episodios, en los que se modificó el protocolo diagnóstico de PBE con recogida de 10ml de LA para cada bote de hemocultivo (grupo 2).

**Resultados:** No se demostraron diferencias significativas en las características basales epidemiológicas y clínicas entre los episodios de PBE, salvo la presencia más frecuente en el grupo 2 de origen etílico de la hepatopatía (55,6 vs. 39,9%,  $p = 0,024$ ), ascitis a tensión (23,3 vs. 12%,  $p = 0,03$ ), íleo paralítico (6,1 vs. 1,3%,  $p = 0,028$ ) e insuficiencia renal al diagnóstico (48,9 vs 32,3%,  $p = 0,014$ ). Se consiguió aislamiento microbiológico en el 13,3% de los episodios del grupo 1, frente al 54,1% en el grupo 2 (OR 7,7 IC 95% 4,11-14,5;  $p < 0,0001$ ). El microorganismo más frecuentemente aislado en líquido ascítico en el grupo 1 fue *E. Coli* (33,6%) seguido de *Stafilococo Aureus* (14,2%), de forma similar al grupo 2 (22,5 y 13,5%, respectivamente).

**Conclusiones:** La inoculación de 10 ml de LA en botes de hemocultivo incrementa de forma significativa la efectividad diagnóstica de los cultivos en los episodios de PBE.

## PAPEL DE CXCR4/SDF-1 EN EL FENOTIPO MIGRATORIO DE CÉLULAS DE HEPATOMA QUE HAN SUFRIDO TRANSICIÓN EPITELIO-MESÉNQUIMA EN RESPUESTA AL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE TIPO BETA (TGF-BETA)

E. Bertran<sup>a</sup>, L. Caja<sup>a</sup>, E. Navarro<sup>a</sup>, P. Sancho<sup>a</sup>, J. Mainez<sup>a</sup>, M.M. Murillo<sup>a</sup>, A. Vinyals<sup>a</sup>, A. Fabra<sup>a</sup> e I. Fabregat<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Laboratori d'Oncologia Molecular. Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL). Barcelona. España.

<sup>b</sup>Departament de Ciències Fisiològiques II. Universitat de Barcelona-IDIBELL. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.

El factor de crecimiento transformante tipo beta (TGF- $\beta$ ) es inhibidor del crecimiento e inductor de apoptosis en hepatocitos. Sin embargo, numerosos estudios indican que podría jugar un papel dual en hepatocarcinogénesis. En células de hepatoma el TGF- $\beta$  induce señales pro- y anti-apoptóticas, del balance de las cuales depende el destino celular (Caja et al. *Cel Signal*. 2008). Las células

que son capaces de sobrevivir responden a este factor induciendo cambios morfológicos característicos de un proceso de transición epitelio-mesénquima (EMT), lo que les confiere capacidad migratoria e invasiva. En este sentido, se ha descrito recientemente que los pacientes de carcinoma hepatocelular humano que muestran un patrón de expresión de genes modulados por el TGF- $\beta$  tardíamente (genes de invasión) muestran un pronóstico peor y menor supervivencia (Coulouarn et al. *Hepatology*. 2008).

Nuestro grupo está interesado en estudiar los mecanismos que permiten a las células tumorales hepáticas superar los efectos apoptóticos del TGF- $\beta$  y responder al mismo induciendo EMT. Hemos establecido una línea celular a partir de células FaO de hepatoma de rata que han sido seleccionadas por su capacidad de sobrevivir al TGF- $\beta$  (T $\beta$ T-FaO, de células FaO tratadas con TGF- $\beta$ ). Estas células muestran un fenotipo mesenquimático en presencia de TGF- $\beta$ , siendo resistentes a sus efectos inhibidores del crecimiento y mediadores de muerte. En ausencia de TGF- $\beta$ , las células recuperan el fenotipo epitelial, lo que coincide con una recuperación de la respuesta a los efectos supresores del TGF- $\beta$ . Las células T $\beta$ T-FaO muestran una mayor capacidad migratoria e invasiva que las células parentales, FaO. Buscando la implicación de una posible quemoquina, hemos encontrado que dichas células expresan altos niveles de CXCR4, receptor de SDF-1/CXCL12, que muestra, además, una localización en el frente de migración. Un antagonista específico de CXCR4 (AMD3100, ampliamente utilizado en clínica) atenúa significativamente la capacidad migratoria de las células T $\beta$ T-FaO. El TGF- $\beta$  es responsable de este aumento en la expresión de CXCR4, a través de un mecanismo NF $\kappa$ B-dependiente. El aumento de CXCR4 sensibiliza a las células T $\beta$ T-FaO para responder a SDF-1 $\alpha$ , que activa la vía de las ERKs, y aumenta su fenotipo migratorio y su capacidad de sobrevivir en circunstancias adversas, como la ausencia de suero. En resumen, hemos establecido un nuevo modelo celular para el estudio de un proceso reversible de EMT que podría tener lugar en respuesta al TGF- $\beta$  durante la carcinogénesis del hígado. Proponemos que el CXCR4, cuya expresión se ve incrementada en respuesta al TGF- $\beta$ , podría tener una gran relevancia en la diseminación del tumor, mediando migración y supervivencia celular.

Este trabajo está financiado por Proyectos del Ministerio de Educación y Ciencia, (BFU2006-01036), Ministerio de Sanidad, (ISCIII-RETICC RD06/0020) y AGAUR-Generalitat de Catalunya (2005SGR-00549).

## PAPEL DE LOS RECEPTORES DE TNF (TNFR1 Y TNFR2) EN LA PROLIFERACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS

N. Tarrats, A. Moles, J.C. Fernández-Checa y M. Marí

Unidad de Hepatología. Hospital Clínic i Provincial. CIBEREHD. IDIBAPS. IIBB-CSIC. Barcelona. España.

**Introducción y objetivo:** Las células estrelladas hepáticas (CEH) sufren una transformación fenotípica, o activación celular, clave en la patogenia de la fibrosis hepática. El TNF juega un papel fundamental en la mayoría de hepatopatías y, en el caso concreto de la fibrosis hepática, se ha observado que ratones deficientes en los receptores de TNF (TNFR1 y TNFR2) son resistentes a la fibrosis inducida por CCl<sub>4</sub> debido a un menor daño hepático e inflamación. Sin embargo, mientras que es conocido el papel que ejercen TGF- $\beta$  y PDGF sobre la activación de las CEH, la contribución del TNF a este proceso resta por determinar. El objetivo de este estudio es analizar si la ausencia de TNFR1 y TNFR2 en las CEH modula su activación, y por tanto, su potencial fibrogénico.

**Métodos:** Cultivo en plástico (2 a 7 días) de CEH primarias de ratones salvajes y deficientes en receptores de TNF (TNF-DKO). Proliferación celular por incorporación de H3-timidina al DNA. AKT,

p-AKT y PDGF $\beta$ R por western blot. Silenciamiento de TNFR1 y TNFR2 en línea LX2 humana mediante siRNA comerciales.

**Resultados:** Se observó una menor proliferación en los estadios iniciales de activación (de día 3 a día 7) de las CEH de ratones TNF-DKO respecto a ratones salvajes (60 vs 100%, día 7), acompañada de una menor actividad de las metaloproteasas MMP-2 y MMP-9. A su vez, se detectó una menor activación de la ruta de AKT en respuesta a PDGF (10ng/ml, 30min) en los ratones TNF-DKO, a pesar de que ambas CEH mostraban niveles similares de receptor de PDGF (PDGF $\beta$ R). Para verificar si esta menor fosforilación de AKT era debida a la ausencia de receptores de TNF se empleó la línea humana LX2 a la que se disminuyeron los niveles de TNFR1, de TNFR2, o de ambos mediante silenciamiento con siRNA. Mientras que las LX2 transfectadas con siRNA control o con TNFR2 siRNA respondían a PDGF-BB fosforilando AKT, esta activación era inferior en las LX2 transfectadas con TNFR1 siRNA o TNFR1/R2 siRNA, poniendo de manifiesto que una correcta señalización a través de TNFR1 es necesaria para la respuesta proliferativa frente a PDGF.

**Conclusión:** La ausencia de receptores de TNF en las células estrelladas hepáticas, en especial de receptor TNFR1, reduce su capacidad proliferativa y de respuesta a mitógenos como el PDGF.

#### PAPEL DEL SÍNDROME METABÓLICO EN EL DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA EN PACIENTES CIRRÓTICOS

E. Hoyas<sup>a</sup>, M. Jover<sup>a</sup>, A. Pérez<sup>a</sup>, R. Aparcero<sup>a</sup>, L. Grande<sup>a</sup>, I. Camacho<sup>b</sup>, D. García<sup>a</sup>, B. Figueruela<sup>a</sup>, E. Suárez<sup>a</sup>, J. Funuyet<sup>a</sup> y M. Romero-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>UGC Enfermedades Digestivas y CIBEREHD. Sevilla. España.

<sup>b</sup>Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

**Objetivo:** Analizar el papel de la resistencia a la insulina en el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma en pacientes con cirrosis hepática.

**Pacientes y Métodos:** Una cohorte de 115 cirróticos (72% hombres; 57  $\pm$  10 años; Child-Pugh: 6,3  $\pm$  1,5; MELD: 9,4  $\pm$  2,9) consecutivos seguidos en nuestra Unidad se sometieron a estudio metabólico incluyendo insulina, glucosa, leptina, adiponectina y TNF mediante método de ELISA y ECLIA, R&D system. Los pacientes fueron seguidos cada 3 o 6 meses durante 34,6  $\pm$  16 meses en una consulta de cribado de cáncer de hígado. Durante el seguimiento desarrollaron hepatocarcinoma 9 pacientes (8%) y fallecieron 19 pacientes (16,5%).

**Resultados:** En el análisis univariado los factores basales asociados con mayor riesgo de desarrollar hepatocarcinoma fueron los niveles de TNF ((19,5  $\pm$  5,8 vs. 15,1  $\pm$  6,5) ng/ml; U-Mann-Whitney  $p$  = 0,042), las cifras de adiponectina (47,6  $\pm$  36 vs. 20,1  $\pm$  16,7;  $p$  = 0,013) micrg/ml y las cifras de alfa-fetoproteína (29,9  $\pm$  42 vs. 7,6  $\pm$  28;  $p$  = 0,039) ng/ml. No encontramos asociación entre los niveles basales de insulina, leptina, glucosa o el índice de HOMA y el desarrollo de cáncer de hígado. Desarrollaron hepatocarcinoma 5 de 33 pacientes con cirrosis C (15%) frente a 4 de 79 cirróticos con otras etiologías (5,1%);  $p$  = 0,12. El desarrollo de hepatocarcinoma fue del 4% el primer año y del 3% en el segundo. Los pacientes con adiponectina superior a 30 micrg/ml presentaron una mayor tasa de desarrollo de hepatocarcinoma; log-rank: 9,43;  $P$  = 0,002. En el análisis multivariado mediante regresión de Cox se comprobó que la única variable independiente asociada con el riesgo de desarrollo de hepatocarcinoma fue la elevación de la adiponectina (HOSPITALR: 1,04 (IC 95%: 1,02-1,07;  $p$  = 0,005).

**Conclusiones:** Las cifras basales de adiponectina predicen el riesgo de hepatocarcinoma. La vía de la adiponectina puede jugar

un papel relevante en el desarrollo de cáncer de hígado en pacientes cirróticos debido a la sobreexpresión de receptores de adiponectina (t-cadherina) en el endotelio vascular de hepatocarcinomas resecados. Por tanto, podría ser una nueva diana terapéutica en la prevención del cáncer.

#### PRONÓSTICO DE LA ATRESIA BILIAR: CASUÍSTICA 1975-2004

L. Hierro, E. Frauca, G. Muñoz-Bartolo, A. de la Vega, C. Camarena, J. Murcia, M. Gámez, R. Batista, R. Díez, M. López-Santamaría, M.C. Díaz y P. Jara

Servicio de Hepatología y Trasplante. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid. España.

**Introducción:** La atresia biliar (AB) es la hepatopatía grave más frecuente en niños. Incide en 1 por 17000 recién nacidos y necesita un diagnóstico temprano y portoenteroanastomosis (PE) antes de 60-90 días de vida para mejorar el pronóstico natural (fallecimiento en el primer año). El trasplante hepático será necesario en la mayoría de los casos antes de la edad adulta.

**Objetivos:** Describir los posibles cambios en características, edad de diagnóstico-cirugía y pronóstico de niños con AB en el período 1975 a 2004.

**Métodos:** Un total de 112 niños con AB fueron atendidos desde el diagnóstico, con PE realizada en el propio centro. Fueron divididos en 2 grupos: A:  $n$  = 58 atendidos en 1975-1989 y B:  $n$  = 54 en 1990-2004. Se analizó la supervivencia con hígado propio (hasta fallecimiento o trasplante) hasta 2007.

La indicación de trasplante se produjo: por ausencia de flujo biliar a los 6 meses de edad, o por complicaciones (colangitis, ascitis, sangrado, malnutrición) o insuficiencia

**Resultados:** Edad de realización de PE: la media fue A: 71 vs B: 62 días ( $p$  = 0,04) pero no hubo diferencias en la proporción de niños operados a edad óptima < 60 días: A: 39% B: 42%.

Tipo de AB: fue completa (toda la vía biliar extrahepática) en A: 70,6% ( $n$  = 41) y B: 83% ( $n$  = 45), el síndrome de poliesplenía afectó a A:  $n$  = 8 y B:  $n$  = 8

Evolución tras PE: No fueron operados A: 2 y B: 6 niños, por diagnóstico tardío. Tras la PE, al 6.º mes de edad hubo igual proporción con buen flujo biliar, en A: 50% ( $n$  = 28) y B: 52% ( $n$  = 25)

Los niños fallecidos sin recibir trasplante fueron en A:  $n$  = 18 (31%) y en B:  $n$  = 6 (11%).

La supervivencia global con hígado propio a los 5 años fue (gráfico): en A: 47,5% y en B: 29% ( $p$  = 0,01) Al comparar el subgrupo con atresia de toda la vía extrahepática la supervivencia a 5 años fue: A: 40% y B: 30% ( $p$  = 0,04)

Se observó diferencia en el manejo de la enfermedad, con indicación de trasplante más precoz en niños del grupo B. En los que restablecieron flujo biliar, con bilirrubina < 2 mg/dl al 6.º mes de edad, la supervivencia con hígado propio a los 5 años fue: A: 85,7% y B: 59% ( $p$  = 0,07)

En el período 1997-2007 se realizaron 84 trasplantes en niños con AB (del propio y otros centros) La supervivencia post-trasplante en AB fue 96% a 10 años post-TH.

**Conclusiones:** Comparando antes y después de 1990, no ha mejorado el diagnóstico precoz de AB, el porcentaje de niños operados antes de 60 días, ni los resultados de la PE. El mejor acceso y buenos resultados del trasplante motivan que, comparativamente al pasado, los niños con AB tengan una menor supervivencia con hígado propio.



## QUIMIOEMBOLIZACIÓN EN CARCINOMA HEPATOCELULAR EN ESTADIO INTERMEDIO

S. Pascual, J. Irurzun, C. Barquero, F. Sánchez, J.M. Palazón, F. Carnicer, P. de la Iglesia, S. Gil, F. de España, J. Duch y M. Pérez-Mateo

Unidad Hepática. Servicio de Medicina Interna. Unidad de Radiología Vascular e Intervencionista. Servicio de Radiología.

**Introducción:** La quimioembolización (QM) se ha convertido en el tratamiento (tto) de elección en los pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) en estadio intermedio (grupo B del BCLC: tumor único, grande, no susceptibles de tratamiento curativo o CHC multinodular, con buena función hepática).

**Objetivo:** Determinar la eficacia, seguridad y supervivencia tras la QM en los pacientes en estadio intermedio comparando los resultados entre los pacientes con tumor único frente a CHC multinodular.

**Pacientes y métodos:** Se incluyeron en el estudio a los pacientes sometidos a QM entre enero de 1996 y diciembre de 2007, con seguimiento hasta septiembre de 2008. Se han analizado variables demográficas, de la hepatopatía y del tumor. Para el análisis estadístico de los datos se ha empleado el programa SPSS versión 11.0 y para el análisis de supervivencia el test de Kaplan Meyer.

**Resultados:** Se incluyó a 145 pacientes con edad media 68 años (74% varones), 64% Child A, 36% Child B, 8% BCLC A, 92% BCLC B. Tumor único (diámetro entre 48-140 mm) en el 48% de los casos, 2 nódulos 23%, 3 nódulos 14%, > 3 nódulos 15%. Al clasificar a los pacientes según el número de nódulos (tumor único vs tumor multinodular) no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las características basales. El porcentaje de pacientes que alcanzaron una respuesta completa tras la 1.ª QM fue mayor en caso de tumor único (24 vs 0%,  $p = 0,034$ ). No hubo diferencias en el número de complicaciones (25% en cada grupo). El análisis de Kaplan Meier no mostró diferencias estadísticamente significativas en la mediana de supervivencia entre los dos grupos de pacientes: 651 días (EE 107,24; IC 95% 440,8-861,1) tumor único vs 566 días (EE 51,9; IC 95% 464,1-667,8) tumor multinodular. Tampoco hubo diferencias al analizar por separados la supervivencia de los pacientes con más de 3 nódulos frente a los otros grupos.

**Conclusiones:** La quimioembolización es una técnica segura y eficaz en los pacientes con CHC en estadio intermedio tanto si presentan un tumor único como en los casos con tumor multinodular.

## RELACIÓN ENTRE REACTIVIDAD DE LAS CÉLULAS CITOTÓXICAS Y RECAÍDA TRAS RESPUESTA AL FINAL DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC

S. Benito<sup>a</sup>, J.R. Larrubia<sup>a,b</sup>, J. Miquel<sup>b</sup>, M. Calvino<sup>a</sup>, E. Sanz-de-Villalobos<sup>b</sup>, M.L. García-Buey<sup>c</sup>, F. González-Mateos<sup>b</sup>, A. González-Praetorius<sup>d</sup> y T. Parra<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Investigación. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

<sup>b</sup>Sección de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

<sup>c</sup>Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de «La Princesa» Madrid. Universidad Autónoma de Madrid. España.

<sup>d</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

**Introducción:** El mantenimiento de una respuesta celular citotóxica tras tratamiento anti-VHC podría tener un importante papel para controlar los posibles reservorios del VHC. Se analizaron la reactividad y la expresión de PD-1 en las células CD8+ VHC específicas según el desarrollo de respuesta virológica sostenida (RVS) en pacientes con hepatitis crónica C (HCC) tratados.

**Material y métodos:** Entre 6 y 24 meses después de alcanzar respuesta virológica al finalizar el tratamiento anti-VHC, se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de 21 pacientes HLA-A2(+) (11 con RVS y 10 recaedores). Se dispuso de datos longitudinales antes y justo tras finalizar el tratamiento en 10 pacientes. Como control se utilizaron 19 sujetos HLA A2(+) con HCC no tratados. La frecuencia de células CD8(+) VHC específicas directamente ex-vivo y tras estimulación antígeno específica se analizó mediante marcaje con complejos pentaméricos HLA-A2/péptido (Pent) y anticuerpos anti-CD8. La expresión de PD-1 tras expansión específica in-vitro fue evaluada tras tinción con Pent y anticuerpos anti-PD1. El análisis se realizó mediante citometría de flujo. Se usaron test no-paramétricos para las comparaciones.

**Resultados:** Tras 6-24 meses de finalizar el tratamiento, la frecuencia de células CD8(+)/Pent(+) en sangre periférica fue mayor en pacientes con RVS (73%) que en recaedores (30%) y no tratados (26%) ( $p = 0,033$ ). Además, en pacientes con células CD8(+)/Pent(+) detectables tras expansión, la expresión de PD-1 fue mayor en recaedores (MFI: 18,4) y no tratados (MFI: 17,2) que en pacientes con RVS (MFI: 10,2) ( $p = 0,021$ ). También se analizó la respuesta citotóxica específica de forma longitudinal, antes y tras terminar el tratamiento en recaedores y pacientes con RVS. En ambos casos la restauración de una respuesta citotóxica específica tras tratamiento fue similar. Sin embargo, la expresión de PD-1 en las células VHC específicas tras tratamiento fue distinta en los dos grupos. Se observó una sobreexpresión de PD-1 tras el encuentro antigénico en pacientes recaedores (MFI: 18,0) con respecto a los pacientes con RVS (MFI: 7,6) ( $p = 0,034$ ).

**Conclusiones:** El tratamiento con interferón pegilado y ribavirina restaura la respuesta citotóxica VHC específica en pacientes con respuesta al final del tratamiento. Sin embargo, la expresión de PD-1 tras el encuentro antigénico es mayor en recaedores que en pacientes RVS. Este hecho podría ser el responsable de la atenuación de la respuesta citotóxica observada durante el seguimiento en los recaedores.

## RESPUESTA INMUNE CELULAR EN DONANTES DE SANGRE CON INFECCIÓN OCULTA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

M. Bes<sup>a,c</sup>, V. Vargas<sup>b,c</sup>, N. Casamitjana<sup>a</sup>, J.I. Esteban<sup>b,c</sup>, M. Piron<sup>a,c</sup>, LL. Puig<sup>a,c</sup>, R. Esteban<sup>b,c</sup>, J. Guardia<sup>b,c</sup> y S. Sauleda<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Seguridad Transfusional. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servicio de Medicina Interna/Hepatología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. UAB. Barcelona. España.

<sup>c</sup>CIBERehd.

**Introducción:** Las técnicas de cribado NAT de alta sensibilidad, han permitido la detección de donantes de sangre con infección oculta por VHB (IOB).

**Objetivos:** Determinar la respuesta inmune celular frente a antígenos del VHB en donantes de sangre con IOB.

**Pacientes y métodos:** Se estudió la respuesta inmune celular de 30 donantes de sangre con IOB [HBsAg (-), ADN VHB (+), anti-HBc (+)], y se comparó con la obtenida en los siguientes grupos: 31 portadores inactivos del VHB [HBsAg (+) y ALT normal], 18 expuestos al VHB [anti-HBc (+); HBsAg (-) y ADN VHB (-)], 19 vacunados [anti-HBs (+)] y 17 seronegativos. Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) se estimularon *in vitro* con HBsAg, HBcAg y HBeAg. El número de células productoras de spots de IFN-gamma se determinó mediante ELISpot y las citoquinas solubles por citometría de flujo (CBA). Los resultados se expresaron como medianas de células productoras de spots por millón de CMSP (CPS-IFN-gamma/10<sup>6</sup> CMPS) para los ensayos de ELISpot y como concentración para los ensayos de CBA.

**Resultados:** La media de edad de los IOB fue de  $56 \pm 8$  años, el 73% eran hombres y el 61% presentaban el genotipo D. Los donantes IOB presentaban un número de células productoras de IFN-gamma superior a la observada en portadores inactivos, y similar a los donantes previamente expuestos al VHB [anti-HBc (+)]. Frente al HBsAg, los donantes IOB presentaban una mediana de 300 CPS-IFN-gamma frente a 130 CPS de los HBsAg (+) ( $p = 0,011$ ) y 780 CPS de los anti-HBc (+) ( $p = ns$ ). Para HBcAg, la mediana del grupo IOB fue de 320 CPS frente a los 140 CPS de los HBsAg (+) ( $p = 0,014$ ) y 120 CPS de los anti-HBc (+) ( $p = ns$ ). La respuesta frente a HBeAg fue superior en IOB que en donantes HBsAg (+) (220 vs 90;  $p = 0,001$ ) y similar a los donantes anti-HBc (+) (220 vs 120;  $p = ns$ ). La producción de IFN-gamma, frente a las tres proteínas del VHB, en sujetos seronegativos fue más baja que en el grupo IOB ( $p < 0,05$ ) y similar a la de los portadores inactivos. Los vacunados presentaban una producción de IFN-gamma similar a la de los donantes anti-HBc (+) (500 vs 780;  $p = ns$ ) y superior a la de los IOB (500 vs 300;  $p = 0,021$ ) en respuesta al HBsAg. El perfil de la producción de IFN-gamma soluble fue similar y confirmó los resultados obtenidos por ELISpot. La producción de TNF-alfa fue superior en IOB que en los seronegativos en respuesta a HBsAg (596 vs 209 pg/ml;  $p = 0,013$ ) pero no frente a HBcAg y HBeAg. La producción de IL-10 frente a HBsAg del grupo IOB fue inferior a la de los anti-HBc (+) (82 vs 178 pg/ml;  $p = 0,005$ ), y similar a la del resto de grupos.

**Conclusiones:** Los donantes IOB muestran una respuesta multiespecífica de las células T de perfil Th1 frente a los antígenos estructurales del VHB. Esta respuesta es más intensa que la observada en portadores inactivos y similares a la observada en donantes previamente expuestos al VHB. La persistencia de la respuesta inmune celular en los IOB, podría ayudar a mantener su bajo nivel de actividad viral.

#### RESULTADOS A DOS AÑOS DE TRATAMIENTO CON TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATO (TDF) VS TRATAMIENTO SECUENCIAL CON ADEFOVIR DIPIVOXIL Y TDF EN PACIENTES CON HEPATITIS B CRÓNICA HBEAG-NEGATIVO

M. Buti<sup>a</sup>, P. Marcellin<sup>b</sup>, Z. Krastev<sup>c</sup>, S. Gurel<sup>d</sup>, R. Balabanska<sup>e</sup>, G. Dusheiko<sup>f</sup>, R. Myers<sup>g</sup>, E.J. Heathcote<sup>h</sup>, J. Sorbel<sup>i</sup>, J. Anderson<sup>j</sup>, E. Mondou<sup>k</sup> y F. Rousseau<sup>l</sup>

<sup>a</sup>Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Hospital Beaujon. France.

<sup>c</sup>Univ. Hospital «St Ivan Rilsky». Bulgaria.

<sup>d</sup>Univ. of Uludag. Turkey.

<sup>e</sup>Tokuda Hospital. Bulgaria.

<sup>f</sup>Royal Free H. U.K.

<sup>g</sup>Univ. of Calgary. Canada.

<sup>h</sup>Toronto Western Hospital. University of Toronto. Canada.

<sup>i</sup>Gilead Sciences. Durham NC.

**Introducción:** TDF es un análogo de nucleótido y terminador de cadena obligado, aprobado para el tratamiento de la hepatitis crónica B (HCB).

**Métodos:** Pacientes monoinfectados con HCB HBeAg-negativo fueron aleatorizados 2:1 (doble-ciego) a recibir TDF 300 mg (N = 250) o adefovir dipivoxil 10 mg (ADV) (N = 125). A las 48 semanas, el estudio se abrió y los pacientes en TDF continuaron con TDF y los tratados con ADV se cambiaron a TDF. A la semana 72 o posteriormente, los pacientes con DNA-VHB  $\geq 400$  copias (c)/mL (69 UI/mL) podían ser tratados a criterio del investigador con TDF y emtricitabina. El ADN-VHB fue determinado a través de COBAS TaqMan (Roche) (Límite de detección = 169 c/mL = 29 IU/mL).

**Resultados:** A los 2 años de tratamiento, 335 (89%) pacientes continuaban en el estudio. El análisis por intención de tratar mostró una respuesta virológica (DNA-VHB < a 400 copias/mL) en el 90% de

los casos tratados con TDF y en el 89% de los tratados con terapia secuencial (adefovir 48 semanas seguido de TDF 48 semanas). En el análisis por protocolo se observó respuesta virológica en el 98% y en 100% de los casos, respectivamente. Los pacientes con ADN-VHB  $\geq 400$  c/mL tras 48 S de ADV (n = 35) y los pacientes estables con ADV (n = 77), con ADN-VHB < 400 c/mL, respondieron favorablemente al cambio a TDF. Además, solo ~1% de los pacientes con TDF en la fase abierta del estudio iniciaron tratamiento con FTC+TDF a partir de la S 72. Los valores medios de ALT fueron similares en la S 96 en ambos grupos terapéuticos (media global de ALT a los 2 años = 37 U/mL). Ningún paciente negativizó el HBsAg. El 7% de los pacientes interrumpieron el tratamiento entre la S 48 y 96 (3 por efectos adversos: 1 por hepatocarcinoma, 1 caso por astenia y otro por colangiocarcinoma). No se observaron alteraciones renales salvo en un paciente que requirió ajuste de la dosis de TDF (300 mg/48 h).

**Conclusión:** TDF produjo una supresión viral potente y continua durante los dos años de tratamiento con buena tolerancia en pacientes HBeAg-. Los pacientes que cambiaron a TDF tras 48 semanas de tratamiento previo con ADV mostraron además una supresión viral significativa y tuvieron una respuesta similar a la de los pacientes tratados con TDF durante las 96 semanas.

#### RESULTADOS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO INFANTIL 1997-2007: ANÁLISIS DE 244 CASOS EN UN CENTRO PEDIÁTRICO

M.C. Díaz, A. de la Vega, E. Frauca, C. Camarena, L. Hierro, G. Muñoz-Bartolo, R. Batista, R. Díez, F. Hernandez, N. Leal, M. Gámez, J. Murcia, M. López Santamaría y P. Jara

Servicio de Hepatología y Trasplante. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid. España.

**Introducción:** El trasplante hepático (TH) pediátrico se realiza en España desde 1985, con resultados mejorados en la última década.

**Objetivo:** De 455 TH realizados en el centro (1986-2007), el objetivo fue evaluar los resultados desde 1997 (244 TH).

**Métodos:** En la casuística enero 1997 a diciembre 2007 se analizaron las características de los niños antes del trasplante, técnica quirúrgica, complicaciones que motivaron la pérdida de injertos, supervivencia del injerto y de los pacientes. Los resultados de 2007 se analizaron por separado como indicadores de la actividad reciente.

**Resultados:** 1) Período 1997-2006 (208 TH en 180 niños). El motivo del TH fue atresia biliar (46%), Alagille (8%), colestasis familiar (7%), deficiencia alfa-1-antitripsina (4%), metabolopatías (11%) fallo agudo (9%), tumor (7%), idiopática (3%) y otras (5%). La edad de los niños era < 2 años en 94 (52%). Los diagnósticos con más porcentaje de niños pequeños fueron atresia biliar y fallo agudo. El injerto fue entero (63; 35%), reducido (60; 33%), Split (15; 8,3%) y de donante vivo (42; 23%). La modalidad técnica no repercutió significativamente en la tasa de fracaso del injerto. La probabilidad de supervivencia de injerto a 5 años fue: Entero: 90,4% Reducido: 82,7% Split: 100% Vivo: 77,7%. Los problemas graves del injerto fueron trombosis arterial en 6,1% y fallo primario en 2,2%. Se realizó retrasplante en 17 niños (9,4%).

La supervivencia de los pacientes es 92,7% (167/180). La probabilidad de supervivencia del paciente (PSP) fue igual en niños pequeños (PSP a 5 años: < 2 años: 92,6%, > 2 años: 93,8%), sin diferencias significativas según diagnóstico previo, aunque cuantitativamente menor en tumores, por recidiva (PSP 5 años: 80,8%), y en fallo agudo (PSP 5 años: 88,2%). Los niños con metabolopatías, atresia o colestasis tuvieron PSP 5 años > 95%. Comparando hepatopatía aguda (n = 17) y crónica (n = 163) la PSP a 5 años fue 88,2 vs 93,6% (ns). El principal determinante de mortalidad fue el fracaso del injerto: la supervivencia en niños que no precisaron retrasplante fue 96% (156/163), frente a 65% (11/17) en los retrasplantados. 2) Período enero-diciembre 2007 (36 trasplantes en 29 niños). El

59% eran < 2 años. Los diagnósticos principales fueron atresia biliar (38%), metabopatía (14%), colestasis intrahepática (10%), tumor (10%), fibrosis hepática congénita (7%, con trasplante renal). La técnica fue: donante vivo (n = 12; 41%), reducido (27,5%), entero (20,6%), split (10%). Fue necesario retrasplante en 6, todos sobrevivieron. La supervivencia global de pacientes fue 96,5% (28/29).

**Conclusiones:** El TH obtiene muy buenos resultados en los últimos 11 años. En la época actual los injertos de donante vivo (41%) permiten mejorar el acceso a THOSPITAL

## RESULTADOS TRAS 1.000 EXPLORACIONES CON FIBROSCÁN. ANÁLISIS DE LA MEDICIÓN DE FIBROSIS EN RELACIÓN CON EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL, ETIOLOGÍA Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

A. Escudero, F. Rodríguez, M.A. Serra, J.A. del Olmo, A. Wassel, L. Aparisi y J.M. Rodrigo

*Servicio de Hepatología. Hospital Clínico Universitario. Universidad de Valencia. Valencia. España.*

**Objetivo:** Analizar la elasticidad hepática en pacientes con diferentes diagnósticos de hepatopatía. Influencia de los resultados según: etiología, operador, índice de masa corporal (BMI) y respuesta al tratamiento entre los pacientes con hepatopatía por virus C (VHC).

**Material y métodos:** Se realizaron 1.005 exploraciones desde diciembre de 2007 a julio de 2008, correspondientes a 951 pacientes (975 pruebas fueron válidas, de los cellas 926 eran de nuestro servicio).

Se analizó el resultado del fibroscan en relación a las diferentes etiologías, la intensidad de la fibrosis según biopsia reciente (menos de un año), al BMI y a los resultados del tratamiento antiviral en los pacientes virus C+.

A todos ellos se les realizó estudio con fibroscan con técnica habitual obteniendo 10 mediciones válidas. Si tras realizar 20 mediciones no se conseguía medición correcta se abandonaba la prueba o si el índice intercuartil era superior al 30% se consideró la exploración no válida.

La exploración fue realizada por 5 operadores.

El estudio estadístico se procesó con programa SPSS13.

**Resultados:** La edad media de los pacientes era de  $51,58 \pm 12,43$  años (rango 25-85). 30 exploraciones no válidas de 1.005 (2,9%): la causa principal del fallo fue el sobrepeso (BMI válidos  $25,9 \pm 4$  y fallidos  $31,0 \pm 5,3$ ;  $p = 0,008$ ).

Resultados de las exploraciones válidas: 926 de ellos la distribución fue la siguiente: por VHC el 68%; VHB el 9%, por alcohol 9,1%, síndrome metabólico 2,4%, y otras el 11,3%.

El peso medio era de  $72 \pm 13$  Kg, talla de  $1,66 \pm 0,09$  m con BMI de  $25,9 \pm 3,9$ .

En el subgrupo de 87 pacientes con biopsia reciente (< 1 año) la medición de elasticidad, mostró una buena correlación ( $p = 0,000$ ) siendo en Estadio 0:  $6,7 \pm 2,6$  kpa, Estadio 1:  $6,7 \pm 2,4$  kpa, Estadio 2:  $7,9 \pm 3,8$  kpa, Estadio 3:  $11,3 \pm 6,7$  kpa y Estadio 4:  $27,4 \pm 3,5$  kpa. Resultados similares se observan en 63 pacientes con VHC + y biopsia reciente ( $p = 0,000$ ).

No existían diferencias interoperadores (F: 1,162  $p = 0,326$ ).

En los 150 pacientes con VHC y respuesta sostenida a tratamiento antiviral hay mejoría en las mediciones de elasticidad con respecto a la biopsia previa al tratamiento, observando los siguientes valores:  $6,4 \pm 3$ ,  $5,4 \pm 1,5$ ,  $5,3 \pm 1,4$ ,  $6,2 \pm 2,2$ ,  $7,0 \pm 3,1$  según la biopsia previa al tratamiento mostrase E0, E1, E2, E3 o E4 respectivamente. El intervalo entre el final de tratamiento y realización de la prueba era superior al año. Los pacientes en tratamiento antiviral VHC muestran mejoría significativa de elasticidad ya en los primeros meses ( $p = 0,035$ ).

**Conclusiones:** 1) La prueba con Fibroscan es un método válido con escasa variabilidad interobservador. 2) Se observa buena relación tanto en la ausencia de fibrosis como en fibrosis avanzada. 3) Existe una mejoría de la fibrosis en pacientes con respuesta sostenida a tratamiento antiviral incluso en fases avanzadas. Por ello el fibroscan es un buen método para control evolutivo de la fibrosis. 4) Durante el tratamiento de la hepatitis C se observa mejoría de la fibrosis ya en fases tempranas.

## SEGUIMIENTO A LARGO PLAZO DEL PACIENTE CON CIRROSIS HEPÁTICA Y HEMORRAGIA POR VARICES: ANÁLISIS DE FACTORES PRONÓSTICOS

L. Muntaner<sup>a</sup>, J.T. Altamirano<sup>a</sup>, S. Augustin<sup>a</sup>, A. González<sup>a</sup>, E. Saperas<sup>b</sup> y J. Genescà<sup>a</sup>

*<sup>a</sup>Servicio de Medicina Interna-Hepatología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.*

*<sup>b</sup>Servicio de Digestivo. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.*

**Introducción:** Pocos estudios han evaluado el pronóstico a largo plazo del paciente con cirrosis hepática que sobrevive a un episodio de hemorragia por varices.

**Objetivo:** Analizar cuáles son los factores que influyen en la aparición de una recidiva hemorrágica y en la mortalidad a largo plazo de pacientes con cirrosis hepática que han sobrevivido al período de 6 semanas después de una hemorragia por varices.

**Pacientes y métodos:** Estudio de cohortes prospectivo en el que se incluyeron todos los pacientes con cirrosis hepática que presentaron una hemorragia por varices esofágicas e ingresaron en la Unidad de Sangrantes de nuestro centro entre enero de 2001 y diciembre de 2007. Se registraron las características clínicas y de laboratorio basales para cada paciente en el momento de la hemorragia y posteriores recidivas. Se ha realizado el seguimiento de los que sobrevivieron a las 6 semanas hasta la fecha de la última visita, muerte o trasplante, analizando la evolución clínica, el número de recidivas, así como el tratamiento realizado y cumplimiento del mismo. Para la identificación de factores de riesgo independientes de recidiva y mortalidad a largo plazo se aplicó el modelo de regresión de Cox.

**Resultados:** De un total de 210 pacientes, 54 fallecieron durante las 6 primeras semanas (25,7%), pudiéndose realizar el seguimiento a 138 (95 varones y 43 mujeres), con una edad media de 58 años. Al inicio del seguimiento, 41 pacientes eran Child A (34,8%), 65 Child B (44,2%) y 36 Child C (26,1%), con una media de 7,9 puntos. Sesenta y tres de los pacientes (45,6%) estaban en un estudio prospectivo de profilaxis de la recidiva hemorrágica. El tiempo de seguimiento medio fue de 27 meses (rango 1-74). Presentaron recidiva hemorrágica 45 (32,6%), 42 de ellos por varices esofágicas. Los factores independientes asociados a recidiva durante el seguimiento en el análisis multivariado fueron la dosis media de betabloqueantes administrada (*hazard ratio*, HR 0,99, intervalo de confianza 95%, IC: 0,98-0,99,  $p=0,037$ ), la abstinencia alcohólica (HR 3,4 IC:1,6-7,1,  $p = 0,002$ ) y el hecho de estar incluido en el estudio (HR 2,6 IC:1,3-5,4,  $p = 0,010$ ). Durante el seguimiento fallecieron 39 pacientes (28,3%) y se trasplantaron 18 (13%). El análisis multivariado mostró como variables independientemente asociadas a mortalidad o trasplante: la puntuación de Child-Pugh (HR 1,9 IC:1,1-1,4,  $p = 0,004$ ), la creatinina basal (HR1,6 IC:1,2-2,3,  $p = 0,004$ ) y la presencia de HCC (HR 2,8 IC:1,6-4,9,  $p < 0,001$ ).

**Conclusiones:** La optimización del tratamiento farmacológico y un buen cumplimiento terapéutico, consiguen disminuir la tasa de recidiva hemorrágica. Sin embargo, el pronóstico a largo plazo de los pacientes cirróticos con hemorragia por varices depende en su mayor parte de la enfermedad de base y el grado de disfunción hepática.

## SEÑALIZACIÓN DEL CALCIO EN HEPATOCITOS HUMANOS TRANSFECTADOS CON LAS PROTEÍNAS NS5A Y CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

M.V. García Mediavilla<sup>a</sup>, S. Sánchez Campos<sup>a</sup>, N.A. Dionisio<sup>b</sup>, C. Galán<sup>b</sup>, J.A. Rosado<sup>b</sup> y J. González Gallego<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD). Instituto de Biomedicina. Universidad de León. León. España.

<sup>b</sup>Departamento de Fisiología. Universidad de Extremadura. Cáceres. España.

**Introducción:** Tanto la proteína estructural core como la no estructural NS5A del virus de la hepatitis C (VHC) contribuyen al desarrollo y evolución de la hepatitis C al causar alteraciones intracelulares asociadas con la formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Dada la existencia de una relación entre el estrés oxidativo y la alteración de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, nos propusimos investigar el efecto de dichas proteínas sobre la movilización del calcio en una línea celular derivada de hepatocitos humanos.

**Objetivos:** Evaluar, en un modelo *in vitro* de hepatitis C, el efecto de las proteínas NS5A y core sobre la homeostasis intracelular del calcio mediante el estudio de la concentración de calcio libre citosólico y de los mecanismos involucrados en la movilización de dicho ión.

**Metodología:** Se utilizaron células de origen hepático (Chang liver) transfectadas establemente con la proteína core o NS5A del VHC. Como control se utilizaron células transfectadas con el correspondiente plásmido vacío. Se estudió el efecto de las proteínas del VHC sobre la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  libre citosólico mediante espectrofluorimetría, utilizando como fluoróforo intracelular fura-2 en presencia o ausencia de fenilefrina o tapsigargina.

**Resultados:** La expresión de las proteínas NS5A y core indujo un incremento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  libre citosólico basal en comparación con sus grupos control. Dichas proteínas víricas disminuyeron la capacidad de las células para acumular  $\text{Ca}^{2+}$  en los depósitos intracelulares, lo que redujo la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  en respuesta a la fenilefrina. La concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico post-estímulo también fue superior en las células que expresan las proteínas del VHC, sugiriendo que la actividad de los mecanismos encargados de disminuir la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citoplasmático está reducida. Así, en las células transfectadas la actividad de la bomba  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa de la membrana plasmática (PMCA) se encuentra disminuida, incrementando la concentración citosólica de  $\text{Ca}^{2+}$ , lo cual estimula la salida de  $\text{Ca}^{2+}$  de los depósitos reduciendo la cantidad de  $\text{Ca}^{2+}$  acumulado en los mismos.

**Conclusiones:** La expresión de las proteínas NS5A y core del VHC está directamente relacionada con la alteración de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  en células Chang liver, contribuyendo en la patogénesis de las alteraciones hepáticas asociadas a la infección con VHC.

## SOBREINFECCIÓN EN PACIENTES SEROPositIVOS PARA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) QUE RECIBEN UN TRASPLANTE DE HÍGADO CON INJERTOS INFECTADOS CON EL VHC: RÁPIDA EXCLUSIÓN DE LA CEPA DEL DONANTE O DEL RECEPTOR

S. Ramírez, S. Pérez del Pulgar, M. Coto, P. González, J.A. Carrión, M. Navasa y X. Forns

Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. España.

La cirrosis hepática producida por la infección del VHC es la primera indicación para el trasplante hepático (TH) en nuestro medio. El número de personas que necesitan un TH aumenta constantemente, mientras que el número de donantes permanece estable.

Una manera de subsanar este desequilibrio es el uso de injertos procedentes de donantes infectados por el VHC. El objetivo de este estudio fue estudiar el principio de exclusión competitiva en el contexto de la sobreinfección con una cepa del VHC distinta a la cepa original del paciente. Para la realización de este estudio se obtuvieron muestras de suero antes del TH (donante y receptor) y en diferentes momentos durante el seguimiento post TH (receptor) de 6 pacientes a los que se les trasplantaron injertos de donantes seropositivos. Para establecer el origen (donante o receptor) de las secuencias del virus obtenidas en el post TH, se estudió un fragmento del gen NS5B del VHC mediante análisis filogenético. En los 6 pacientes estudiados, las cepas del donante y las del propio paciente trasplantado fueron del mismo genotipo. La cepa del donante reemplazó a la cepa original del receptor en cuatro de los seis casos. Durante la primera semana tras el TH se detectó coexistencia de las dos cepas en al menos dos pacientes. En el resto de pacientes la exclusión de la cepa correspondiente sucedió durante esta primera semana. El análisis de las muestras de suero 4 meses después del TH y un año (en 2 casos) no mostró cambios en la cepa que estableció la dominancia durante las primeras semanas post TH. Estos resultados demuestran que la sobreinfección con una cepa del VHC del mismo genotipo durante el TH conduce a una exclusión de la cepa del donante o del receptor rápidamente después del TH.

## TELBIVUDINA PROPORCIONA ALTAS TASAS DE RESPUESTA MANTENIDA EN PACIENTES HBeAg POSITIVO DESPUÉS DE 3 AÑOS

E. Gane<sup>a</sup>, M. Buti<sup>b</sup>, M. Diago<sup>c</sup>, M. Rodríguez<sup>d</sup> y N. Naoumova<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Middlemore Hospital. Auckland. New Zealand.

<sup>b</sup>Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Hospital General de Valencia. Valencia. España.

<sup>d</sup>Hospital Central de Asturias. Oviedo. España.

<sup>e</sup>Novartis AG. Basel. Switzerland.

**Antecedentes:** La supresión profunda y mantenida de la replicación del VHB y la seroconversión son los principales objetivos terapéuticos del tratamiento de los pacientes con hepatitis crónica B (HCB) HBeAg positivo. De todos modos, no existen muchos datos sobre el mantenimiento de la respuesta terapéutica con agentes antivirales orales. El objetivo de este estudio ha sido evaluar el mantenimiento de la respuesta a los 3 años en pacientes HBeAg positivo tratados con telbivudina que consiguieron ADN-VHB indetectable y seroconversión después de 104 semanas en tratamiento.

**Métodos:** La población de estudio incluye 87 pacientes HBeAg-positivo que participaron en dos ensayos clínicos fase 3 y que después de 104 semanas en tratamiento cumplían criterios de i) seroconversión a anti-HBe, ii) ADN-VHB indetectable en suero por PCR (< 300 copias/ml) y iii) habían completado al menos 3 años de tratamiento continuado con telbivudina.

**Resultados:** A los 3 años, los 87 pacientes mantenían la pérdida de HBeAg, 81/87 (93.1%) mantenían la seroconversión a anti-HBe, y 88% mantenían ALT normalizadas. En 79 de 87 (90.8%) pacientes perdieron el HBeAg y el ADN-VHB estaba por debajo de  $10^3$  copias/ml a los 3 años. En 8/87 (9.2%) pacientes, el ADN-VHB estaba entre  $10^3$ - $10^5$  copias/ml a los 3 años. La seroconversión se mantuvo en 7 de los 8 pacientes, indicando que a pesar de la presencia de VHB la producción de HBeAg no era posible.

**Conclusión:** El tratamiento mantenido con telbivudina en los pacientes que consiguen seroconversión permite un control sostenido de la replicación del VHB, siendo estos pacientes candidatos para discontinuar el tratamiento.

## TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATO EN MUJERES GESTANTES. HALLAZGOS DEL REGISTRO DE USO DE ANTIRRETROVIRALES DURANTE EL EMBARAZO

M. Buti<sup>a</sup>, D. Goodwin<sup>b</sup>, S. Zhang<sup>b</sup> y E. Fagan<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Gilead Sciences. Inc. Foster City. CA.

**Introducción:** Tenofovir disoproxil fumarato (TDF) fue aprobado en 2001 para el tratamiento de la infección por VIH-1 y en el 2008 para el tratamiento de la hepatitis crónica B. Está clasificado como un fármaco de Categoría B por la FDA (no teratogénico en animales). Tenofovir se ha utilizado para prevenir la transmisión del VHB y VIH, sin embargo su seguridad no está bien establecida.

**Métodos:** El Registro de Uso de Antirretrovirales durante el embarazo (APR)<sup>1</sup> es un registro internacional que recoge de forma prospectiva las notificaciones voluntarias sobre los principales efectos teratogénicos hallados en mujeres embarazadas tratadas con antirretrovirales (ARVs) y anti-virales para VHB. Este registro empezó a funcionar en 1989 e incluye datos de ~900 mujeres embarazadas/año en los EE.UU. (~14% de nacidos vivos de mujeres infectadas con VIH). El número de exposiciones a los 11 antirretrovirales (ARV) incluido el TDF, registradas en mujeres gestantes durante el 1º trimestre, es suficiente para detectar un incremento de al menos 2 veces el número total de los defectos de nacimiento.

**Resultados:** Hasta el 31 de enero de 2008 se han registrado en el APR 11.209 casos prospectivos de mujeres gestantes (incluidos 98 pacientes coinfectados VIH/VHB y 78 pacientes con monoinfección por VHB) y 9.400 nacidos vivos. De ellos, 800 recién nacidos vivos eran de mujeres gestantes expuestas al tenofovir (la mayoría de mujeres con infección VIH-1 y tratadas en combinación con otros ARV). Globalmente, no se ha observado ningún incremento en el número de malformaciones congénitas de recién nacidos tras la exposición a ARV durante cualquier trimestre, en comparación con el registro de defectos congénitos en la población general de EE.UU.

**Conclusión:** Las tasas de anomalías congénitas observadas en mujeres gestantes expuestas al tenofovir son comparables a las del Sistema de Vigilancia de Defectos Congénitos basada en la población de los CDC (2,72/100 nacidos vivos).

## TRASPLANTE HEPÁTICO POR HEPATITIS FULMINANTE. INDICACIONES Y RESULTADOS

I. Conde Amiel<sup>a</sup>, V. Aguilera Sancho-Tello<sup>a,b</sup>, A. Nevárez Heredia<sup>a</sup>, A. Rubín Suárez<sup>a</sup>, M. Berenguer Haym<sup>a,b</sup> y M. Prieto<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Hepatología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

<sup>b</sup>CIBERehd.

**Introducción:** La insuficiencia hepática aguda grave (IHAG) es una entidad poco frecuente con elevada morbi-mortalidad. El trasplante hepático (TH) ha mejorado su pronóstico. Nuestro objetivo fue determinar las indicaciones y resultados del TH por IHAG en nuestro medio así como los posibles factores predictores de mortalidad.

**Material y métodos:** Se estudiaron retrospectivamente pacientes trasplantados hepáticos por IHAG desde 1991 hasta 2007 en nuestro hospital. Se analizaron datos epidemiológicos, clínicos y analíticos del pre y post-trasplante. Se analizó la supervivencia global del paciente y del injerto así como las variables pre-TH asociadas con la mortalidad. Se compararon los pacientes de etiología vírica respecto al resto.

**Resultados:** 41 pacientes fueron sometidos a TH por IHAG. La prevalencia ha aumentado con el tiempo (0,04% hasta 1995 frente a 5,3% de 2004 a 2007). La mediana de edad fue de 39 años, 49% varones. La etiología más frecuente fue la vírica (34%) frente a autoinmune (7,3%), criptogénica (29,3%) y tóxico-medicamentosa

(29,3%), con presentación aguda (41%) y encefalopatía III-IV/IV (73%). Más de un 1/3 de los pacientes presentaba insuficiencia renal y respiratoria pre-TH. Casi todos los donantes fueron compatibles. La supervivencia al 5.º y 10.º año fue del 75% con una mortalidad global del 24,4%, en el 1.º mes post-TH, por complicaciones infecciosas. Las complicaciones precoces post-TH más frecuentes fueron: infecciones (32%), insuficiencia renal (29%) y disfunción inicial del injerto (36%), y tardías: complicaciones biliares (30%) e hipertensión arterial (46%). La diabetes pre-trasplante fue la única variable asociada con mortalidad ( $p = 0,002$ ). La evolución post-TH fue peor en los pacientes con etiología vírica frente al resto: disfunción del injerto 57 vs 26%,  $p = 0,04$ , re-TH 21 vs 0%,  $p = 0,04$ .

**Conclusión:** El TH permite mejorar la supervivencia de estos pacientes. La identificación de factores pronósticos pre-TH es fundamental para una correcta selección de pacientes. La etiología vírica tiene peor evolución post-TH.

## TRATAMIENTO CON TENOFOVIR EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B «DIFÍCILES DE TRATAR»

L.G. Diéguez<sup>a</sup>, V. Cadahía<sup>a</sup>, S. Melón<sup>b</sup>, M. Varela<sup>a</sup>, M. Oña<sup>b</sup>, L. Rodrigo<sup>a</sup> y M. Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Universitario Central de Asturias. España.

<sup>b</sup>Unidad de Virología. Hospital Universitario Central de Asturias. España.

**Introducción:** El tenofovir (TNF) es el último fármaco aprobado para el tratamiento de la hepatitis crónica B (HCB), por lo que existen pocos datos de su uso en la práctica clínica. No obstante, el hecho de ser utilizado en el tratamiento de la infección VIH, ha permitido adquirir cierta experiencia en la HCB.

**Objetivo:** analizar los resultados del tratamiento con TNF en una serie de pacientes con HCB, la mayoría de ellos con resistencia a otros análogos.

**Pacientes y métodos:** 24 pacientes (21 varones; edad  $52 \pm 10$  años) con HCB recibieron tratamiento con TNF a la dosis de 300 mg/d o ajustada a la función renal en caso de deterioro de la misma, junto con lamivudina o emtricitabina. Doce estaban coinfectados por VIH y 3 eran trasplantados hepáticos. Al inicio del tratamiento el HBeAg era + en 16 (66%); 11 infectados por genotipo A, 11 por D y 2 por otros. Cuatro pacientes eran *naïve* (coinfectados por VIH), 13 resistentes a lamivudina (5 con respuesta subóptima a adefovir) y 7 resistentes a lamivudina y adefovir. Todos fueron seguidos a intervalos regulares, realizando determinaciones de DNA-VHB por una técnica de PCR.

**Resultados:** Los niveles basales de DNA-VHB descendieron desde  $6,4 \pm 1,5 \log_{10}$  cop/ml al inicio del tratamiento a  $2,4 \pm 2,6$  al mes,  $2,1 \pm 2,3$  a los 3 meses,  $1,9 \pm 1,5$  a los 6 meses y  $1,5 \pm 2,0$  a los 12 meses. Durante un tiempo medio de tratamiento de  $25 \pm 21$  meses, 17/24 (71%) negativizaron el DNA-VHB. La probabilidad acumulada de negativizar el DNA-VHB fue de 47% a los 6 meses y 61% al año. No se observaron diferencias en dicha probabilidad entre pacientes con y sin resistencia a adefovir ( $p = 0,9$ ). Un paciente, con mal cumplimiento terapéutico, presentó durante el tratamiento un rebote virológico, sin detectarse la mutación A194T. El tratamiento fue interrumpido en un trasplantado hepático por un cuadro de astenia, cefalea y deterioro general, que revirtió tras la interrupción. En dos pacientes se ha producido la negativización del HBsAg; a los 6 meses del inicio en un trasplantado hepático con reactivación y resistencia a lamivudina y en un coinfectado por VIH con resistencia a lamivudina a los 4 años. En ningún caso se observaron incrementos en los valores de creatinina  $> 0,5$  mg/dl con respecto a los basales.

<sup>1</sup>Antiretroviral Pregnancy Registry Website: [www.APRRegistry.com](http://www.APRRegistry.com)

Exposición temprana a ARVs		TDF	Todos los ARVs en APR
1 <sup>er</sup> Trimestre	N.º de defectos/Nacidos vivos	11/491	117/3951
	Prevalencia (95% CI)	2,2% (1,1-4,0)	3,0% (2,5-3,5)
2º/3º Trimestre	N.º de defectos/Nacidos vivos	4/309	143/5446
	Prevalencia (95% CI)	1,3% (0,4-3,3)	2,6% (2,2-3,1)

**Conclusiones:** El TNF es un fármaco útil en el tratamiento de pacientes con hepatitis crónica B «difíciles de tratar». Aparentemente, la presencia de resistencia a adefovir no limita su utilidad. La frecuencia de efectos adversos es baja, aunque deberá analizarse la posible interacción con fármacos utilizados en el trasplante hepático. Es posible que logre la resolución de la infección en una proporción no despreciable de casos.

### TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA B: EXPERIENCIA DURANTE LOS ÚLTIMOS 20 AÑOS

L.G. Diéguez<sup>a</sup>, V. Cadahía<sup>a</sup>, M. Rodríguez<sup>b</sup>, N.G. Sotorrios<sup>a</sup>, S. Melón<sup>b</sup>, R. Pérez<sup>a</sup>, L. Rodrigo<sup>a</sup> y M. Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Universitario Central de Asturias. España.

<sup>b</sup>Unidad de Virología. Hospital Universitario Central de Asturias. España.

**Introducción:** A pesar de los avances logrados, el tratamiento de la HCB no es satisfactorio.

**Objetivo:** Conocer los resultados del tratamiento en una serie de HCB tratadas durante los últimos 20 años en un único centro.

**Pacientes y métodos:** Entre 1988 y 2007, 207 pacientes con infección crónica por VHB recibieron tratamiento. Aquellos con cirrosis descompensada (32) o CHC (3) al inicio, los tratados tras un trasplante hepático (8) y los coinfectados por VHC y/o VHD (14) fueron excluidos. De los 150 restantes (42 ± 14 a), 80 recibieron IFN y 70 análogos (ANA) como 1.ª línea. Al inicio del tratamiento, 58% eran HBeAg+ y 22% tenían cirrosis. Infección por genotipo A 44% y D 45% (determinado en 92). Todos fueron seguidos de forma prospectiva (9,2 ± 5,8 años).

**Resultados:** Con respecto a los tratados con ANA, los que recibieron IFN fueron más jóvenes (38 ± 12 vs 47 ± 15; p = 0,0001) y con mayor frecuencia HBeAg+ (66 vs. 48%; p = 0,02), sin observar diferencias en sexo (p = 0,8) ni en la proporción de cirrosis (p = 1). Los tratados con ANA recibieron con mayor frecuencia más de una línea de tratamiento (58 vs 34%; p = 0,003). Durante el seguimiento, 26/150 (17,3%) negativizaron el HBsAg, con una probabilidad a 15 años del 30%, siendo la misma mayor en los tratados con IFN que en los que recibieron ANA (30 vs. 10% a 10 años; p = 0,02) y entre aquellos en los respondedores que en los no respondedores (50 vs. 11% a 15 años; p = 0,002). La negativización del HBsAg no se asoció con HBeAg (p = 0,4), edad (p = 0,7), sexo (p = 0,5) ni con cirrosis (p = 0,7). Presentaron descompensación de la enfermedad 7 (4,7%) y 5 (3,3%) desarrollaron un CHC, con una probabilidad de cualquiera de los 2 eventos del 9,7% a 15 años. El riesgo de complicaciones fue mayor en pacientes con cirrosis (30 vs. 1% a 15 años; p = 0,0001) y en aquellos > 45 años (23 vs 3% a 15 años; p = 0,003), sin observar diferencias en sexo (p = 0,07), HBeAg (p = 0,9) o tipo de tratamiento (p = 0,7). Aunque la aparición de complicaciones fue menos frecuente en pacientes que negativizaron el HBsAg (1/26 vs. 10/124), las diferencias no fueron significativas (p = 0,2). Desarrollaron resistencia 31/70 (44%) tratados en 1.ª línea con ANA. Un paciente precisó trasplante hepático y 16 fallecieron (5 de causa hepática), con una supervivencia global a 15 años del 85% y del 95% teniendo en cuenta únicamente la mortalidad hepática.

**Conclusiones:** A pesar de las limitaciones que tiene el tratamiento de la hepatitis crónica B, los resultados obtenidos en los últimos 20 años son buenos en lo que se refiere a riesgo de complicaciones de la enfermedad, necesidad de trasplante y supervivencia. El tratamiento debería iniciarse antes de alcanzar el estadio de cirrosis, ya que una vez establecida ésta no evita la aparición de complicaciones. En una proporción no desdeñable de pacientes, especialmente los respondedores a IFN, se consigue erradicar la infección.

### TRATAMIENTO DE METÁSTASIS HEPÁTICAS DE CÁNCER DE COLON MEDIANTE EXPRESIÓN PERI-TUMORAL DE INTERLEUQUINA 12 EN COMBINACIÓN CON OXALIPLATINO

M. González-Aparicio<sup>a</sup>, P. Alzugarren<sup>a</sup>, I. Mauleón<sup>a</sup>, J. Crettaz<sup>a</sup>, G. González-Aseguinolaza<sup>a</sup>, M. Zabala<sup>a</sup>, J. Prieto<sup>b</sup> y R. Hernández-Alcoceba<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Área de Terapia Génica y Hepatología. CIMA de la Universidad de Navarra. Fundación para la Investigación Médica Aplicada. Pamplona. España.

<sup>b</sup>CIBERehd. Clínica Universitaria. Pamplona. España.

**Antecedentes:** Las metástasis hepáticas se observan con frecuencia en pacientes de cáncer de colon, ya sea en el momento de presentación del tumor primario, o tiempo después de su tratamiento quirúrgico. Las opciones terapéuticas en estos casos son escasas, y esto condiciona el pronóstico de la enfermedad. La inmunoterapia ofrece la posibilidad de actuar de modo sistémico sobre tumores multifocales y evitar las recidivas. La interleuquina-12 (IL-12) es una potente citoquina inmunoestimuladora que ha mostrado efecto antitumoral en diversos modelos de cáncer, aunque su aplicación en la clínica depende de la existencia de métodos seguros y eficaces para lograr su expresión.

**Métodos:** En el presente trabajo hemos utilizado un sistema regulable y hepato-específico para la producción de interleuquina-12, vehiculizado por un vector adenoviral de alta capacidad (HC-Ad) que consigue expresión a largo plazo. Nuestro modelo de estudio se basa en la inoculación de células tumorales MC-38 en el hígado de ratones singénicos. Estas células han sido modificadas para que expresen de modo constitutivo el gen reportero luciferasa, de modo que puede realizarse un seguimiento no invasivo de la progresión tumoral. Con estas herramientas hemos optimizado la pauta de producción de IL-12 y hemos estudiado las posibilidades de sinergia con otros tratamientos.

**Resultados:** La producción mantenida de IL-12 en el hígado peritumoral consigue bloquear la progresión de los tumores y eliminarlos en la mayoría de los ratones. Para ello son necesarios varios ciclos de inducción. La combinación con oxaliplatino consigue el mismo efecto en un único ciclo de inducción, y favorece el desarrollo de una protección inmunológica a largo plazo frente a los tumores.

**Conclusión:** Nuestros resultados indican que el efecto antitumoral de la IL-12 se ve potenciado por el tratamiento simultáneo con quimioterapia (oxaliplatino). Este protocolo es potencialmente aplicable en el ámbito clínico.

## TRATAMIENTO DEL FALLO HEPÁTICO FULMINANTE (FHF) EXPERIMENTAL CON CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES (EPC) TRANSDUCIDAS CON UN VECTOR ADENOVIRAL CODIFICANTE PARA CARDIOTROFINA 1 (CT-1)

V. Fernández-Ruiz<sup>a</sup>, M.P. Kawa<sup>a</sup>, D. Campos<sup>a</sup>, M. Iñiguez<sup>a</sup>, C. Berasain<sup>a</sup>, J. Quiroga<sup>b</sup> y J. Prieto<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>División de Hepatología y Terapia Génica del Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA) y CIBEREHD. Instituto Carlos III. Universidad de Navarra. Navarra. España.

<sup>b</sup>Clínica Universitaria. Pamplona. España.

**Introducción y objetivos:** El endotelio vascular produce factores hepatoprotectores capaces de defender a los hepatocitos frente a agentes injuriantes. Uno de los factores hepatoprotectores de origen endotelial es la CT-1. Recientemente se ha descrito que el trasplante de Células Progenitoras Endoteliales (EPC) mejora la supervivencia de los ratones con daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono y aumenta la proliferación hepatocelular. En el presente trabajo se ha evaluado el efecto de EPC solas o ingenierizadas genéticamente para sobreexpresar CT-1 en un modelo de fallo hepático fulminante inducido por la administración de un adenovirus que expresa el ligando del CD40 (Ad-CD40L; Schmitz et al. 2006). Este modelo está caracterizado por la aparición de amplias áreas de necrosis hepatocelular por sobreproducción de citoquinas proinflamatorias en el hígado y remedia la hepatitis fulminante o subfulminante humana de alta mortalidad.

**Métodos:** Las EPC de ratón se obtuvieron mediante el aislamiento de las células mononucleares de médula ósea y su posterior cultivo durante 7 días en presencia de un medio selectivo endotelial. La expresión de factores hepatoprotectores como VEGF, HGF, IGF-I y CT-1 y de factores mobilizantes de EPC como SDF-1, se analizaron mediante PCR cuantitativo y ELISA. Se indujo FHF mediante la inyección intravenosa de  $10^{10}$  pfu/ratón de Ad-CD40L (dosis letal). Los animales se trataron a las 48 h con  $2 \times 10^6$  EPC sin manipular o transducidas con un adenovirus codificante de CT-1 (EPC CT-1) a las 48 horas. Se estudió la tasa de supervivencia, se determinaron los niveles séricos de transaminasas y se realizó un análisis histológico del tejido hepático dañado.

**Resultados:** Se comprobó que las EPC derivadas de células mononucleares de la médula ósea producen factores citoprotectores incluyendo VEGF, HGF, IGF-I, SDF-1 y CT-1. La administración intravenosa de una dosis letal del Ad-CD40L produjo la muerte de todos los ratones C57BL/6 a partir de las 120 h tras la administración del adenovirus. La tasa de supervivencia de los animales con daño hepático tras la administración intravenosa de EPC, no modificadas genéticamente fue del 20% en tanto que la supervivencia alcanzó el 50% en los animales que recibieron EPC transducidas con un vector adenoviral que sobreexpresa CT-1. La mejoría de la supervivencia se acompañó de una mejoría paralela en los parámetros bioquímicos e histológicos.

**Conclusiones:** Nuestros resultados muestran que las EPC derivadas de células mononucleares de la médula ósea tienen capacidad para proteger al hígado frente al daño provocado por citoquinas proinflamatorias y que este efecto puede ser potenciado mediante su ingeniería para hiperexpresar factores hepatoprotectores como la CT-1. Estos hallazgos sugieren que la administración de EPC humanas ingenierizadas puede constituir un tratamiento útil para el FHF y otras situaciones de daño hepático agudo severo.

## UNA SOBRECARGA ORAL DE GLUTAMINA ALTERADA EN PACIENTES CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA VALORADA MEDIANTE LA MEDICIÓN DE LA FRECUENCIA CRÍTICA DE PARPADEO (FCP) PREDICE ELEVADO RIESGO DE ENCEFALOPATÍA Y MENOR SUPERVIVENCIA

M. Jover<sup>a</sup>, E. Hoyas<sup>a</sup>, L. Grande<sup>a</sup>, B. Pardo<sup>a</sup>, I. Camacho<sup>b</sup>, A. Madrazo<sup>a</sup>, D. García<sup>a</sup>, B. Figueruela<sup>a</sup>, E. Suárez<sup>a</sup>, J. Funuyet<sup>a</sup> y M. Romero-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>UGC Enfermedades Digestivas y CIBEREHD. Sevilla. España.

<sup>b</sup>Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

**Objetivo:** Analizar el desarrollo de encefalopatía hepática (EH) y la supervivencia en pacientes con EHM valorada mediante la medición de la frecuencia crítica de parpadeo (CFF) sometidos a una sobrecarga oral de glutamina (SOG).

**Pacientes y métodos:** Una cohorte de 107 cirróticos (72% hombres; 28% mujeres;  $57,92 \pm 10,76$  años; Child-Pugh:  $6,21 \pm 1,3$ ; MELD:  $9,1 \pm 3,9$ ) consecutivos seguidos en nuestra Unidad se sometieron a estudio de EHM, mediante la medición de la FCP (Hepato-norm™ Analyzer, R&R Medi-Business Freiburg GmbH, Freiburg, Germany), se diagnosticó EHM en pacientes con FCP < 38 Hz. Medimos el área bajo la curva de amonio tras la ingesta de 10 gramos de L-glutamina, basal y a los 60 minutos. El área bajo la curva (AUC) se consideró alterada cuando fue mayor de 104 mg/dl/Hospital Valamos la función hepática mediante el índice de Child-Pugh y MELD. Los pacientes fueron seguidos cada 3 o 6 meses durante  $33,2 \pm 15,2$  meses. Durante el seguimiento presentaron ascitis 30 (28,3%), encefalopatía hepática 19 (18,3%), hemorragia por varices 10 (9,3%) y fallecieron 21 pacientes (19,6%).

**Resultados:** En la regresión de COX se identificaron como variables independientes relacionadas con el desarrollo de EH en el seguimiento: La SOG alterada en pacientes con EHM [HR 2,37 (IC 95%: 1,03-5,44);  $p < 0,05$ ]; Child-Pugh [HR 1,8 (IC 95%: 1,19-2,74)]. Los pacientes con SOG normal y normal FCP mostraron una supervivencia del 93,8% mientras que los pacientes con EHM y SOG alterada alcanzaron una supervivencia del 56,4%; log-rank: 19,5;  $p < 0,0001$ . El análisis multivariante mediante regresión de COX la alteración de la SOG en pacientes con EHM (HR 5,9 (IC 95% 2,4-14,6);  $p < 0,0001$  y el índice MELD (HR 1,19 (IC 95% 1,03-1,38);  $p < 0,02$  fueron las variables predictoras de supervivencia.

**Conclusiones:** La medición de la frecuencia crítica de parpadeo es un método fácil, rápido, seguro y muy útil para el diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima. La realización de una SOG en pacientes con EHM definido por la FCP permite definir el riesgo de EH y la supervivencia. Por lo tanto, esta combinación puede resultar útil en la selección de pacientes candidatos para trasplante de hígado.

## VALIDACIÓN DE EFICACIA Y SEGURIDAD DE QUIMIOEMBOLIZACIÓN CON ESFERAS DE POLIVINILO-ALCOHOL CARGADAS CON QUIMIOTERAPIA (TACE-DEBS) EN PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR

M.E. Reig<sup>a</sup>, M. Burrel<sup>b</sup>, M.I. Real<sup>b</sup>, A. Forner<sup>a</sup>, M. Varela<sup>a</sup>, J. Rimola<sup>a</sup>, C. Rodríguez de Lope<sup>a</sup>, C. Ayuso<sup>b</sup>, J. M Llovet<sup>a</sup> y J. Bruix<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC). Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBEREHD. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servicio de Radiodiagnóstico. Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC). Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBEREHD. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

**Introducción y objetivos:** En la mayor parte de pacientes con carcinoma hepatocelular no es posible realizar tratamientos cura-



tivos. En aquellos casos con enfermedad multifocal sin invasión vascular ni extrahepática y función hepática compensada (estadio BCLC B), el único tratamiento eficaz es la quimioembolización (TACE), que se asocia a una supervivencia mediana de 20 meses. A pesar de lograr una respuesta objetiva inicial, el tumor se revasculariza y se produce progresión tumoral. Con objeto de aumentar la respuesta se efectuó un ensayo clínico inyectando microesferas (500-700  $\mu\text{m}$  de diámetro) de polivinilo-alcohol cargadas con quimioterapia (TACE-DEBs) que, al mismo tiempo que obstruyen el flujo arterial, liberan la quimioterapia de manera progresiva. La tasa de respuesta objetiva (RO) según EASL fue del 66% y el perfil farmacocinético fue favorable (Varela et al. J Hepatol. 2007). El objetivo de este estudio es determinar el tiempo a progresión radiológica (TTP según RECIST) y la supervivencia de los pacientes incluidos en dicha serie, y al mismo tiempo evaluar la eficacia y la seguridad del tratamiento en pacientes en la práctica clínica convencional (noviembre 2007 a septiembre 2008) usando DEBs de 300-500  $\mu\text{m}$  con objeto de conseguir una embolización mas distal.

**Resultados:** Se incluyeron 57 pacientes (edad mediana 70 años [42-84], 80% varones, 63% VHC+). En la 1.ª serie 2 pacientes presentaron absceso hepático con 1 exitus a 3 meses. Con una mediana de seguimiento de 42 meses [15-55] la mediana del TTP fue 15 meses y la mediana de supervivencia de 32 meses. La tasa RO según EASL en la 2.ª serie fue del 63%, registrando 1 disección de arteria hepática y 1 hemorragia intratumoral.

**Conclusión:** Estos resultados validan la eficacia terapéutica de las DEBs como agente para quimioembolización y confirman su buen perfil de seguridad.

#### VALIDACIÓN DEL SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BCLC EN PACIENTES CON VHC Y CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC) EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL

S. Coll<sup>a</sup>, L. Ilzarbe<sup>a</sup>, M.D. Giménez<sup>a</sup>, M. Busto<sup>b</sup>, J. Sánchez<sup>b</sup>, G. Aguilar<sup>b</sup>, F. Burdío<sup>c</sup>, I. Cirera<sup>a</sup>, M. García-Retortillo<sup>a</sup>, N. Cañete<sup>a</sup>, F. Bory<sup>a</sup>, J. Perich<sup>d</sup>, L. Grande<sup>c</sup> y R. Solà<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Sección de Hepatología. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Diagnóstico por la Imagen. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Servicio de Cirugía. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>d</sup>IDIMAS, Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

**Introducción:** El sistema de clasificación del carcinoma hepatocelular (CHC) Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) ha sido recientemente validado en Europa y Estados Unidos y se usa ampliamente en nuestro país.

**Objetivo:** Confirmar la correlación entre el sistema BCLC y la supervivencia de los pacientes con CHC asociado a VHC tratados en la práctica clínica habitual.

**Métodos:** Durante el período 1996-2007 se diagnosticaron 327 pacientes de CHC y HC-VHC. Quince pacientes fueron excluidos por pérdida del seguimiento o control en otro centro. El proceso diagnóstico incluye al menos dos pruebas de imagen dinámicas, biopsia si es preciso y discusión en Comité de Tumores Hepáticos. Los pacientes fueron clasificados según el sistema BCLC y tratados en consecuencia. Los pacientes fueron controlados hasta abril de 2008 o el exitus. La supervivencia se calculó mediante curvas de Kaplan Meyer y se compararon con el log-rank test.

**Resultados:** Se incluyeron 312 pacientes (edad  $70 \pm 0,6$  años, media  $\pm$  SE; varones 68,6%). La distribución de pacientes en fun-

ción del BCLC fue A1: 32 (10,3%), A2: 58 (18,6%), A3: 63 (20,2%), A4: 22 (7,1%), B: 65 (20,8%), C: 55 (17,6%), y D: 17 (5,4%). El tratamiento inicial fue la ablación percutánea en 88 (28,3%), resección quirúrgica en 10 (3,2%), trasplante hepático en 11 (3,5%), embolización arterial o quimioembolización en 62 (19,9%), sorafenib en 3 (1%) y sintomático en 137 (44,1%). La probabilidad de supervivencia actuarial global fue de 63,2, 30,9 y 16,6% a los 12, 36 y 60 meses, respectivamente. La probabilidad de supervivencia en los diferentes grupos del BCLC, en los mismos periodos fue: A1: 96,9, 71,8 y 50,7%; A2: 82,1, 46 y 31,2%; A3: 77,4, 31,8 y 14,9%; A4: 65,7, 29,6 y 14,8%; B: 66,9, 29,1 y 5,9%; C: 18,3, 0 y 0%; D: 5,9, 0, y 0%, respectivamente (log-rank  $p < 0,0001$ ).

**Conclusión:** El sistema de clasificación BCLC se correlaciona estrechamente con la supervivencia de los pacientes con VHC y CHC tratados en práctica la clínica habitual.

#### VALOR DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DEL FRAGMENTO N-TERMINAL DEL PÉPTIDO NATRIURÉTICO CEREBRAL EN LA CARDIOMIOPATÍA CIRRÓTICA Y SU EVOLUCIÓN TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

V. Bernal<sup>a</sup>, I. Pascual<sup>b</sup>, C. Fernández<sup>b</sup>, P. Esquivias<sup>a</sup>, A. García Gil<sup>c</sup>, J.M. Mateo<sup>d</sup>, M.T. Serrano<sup>a</sup> y M.A. Simón<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Aparato Digestivo. España.

<sup>b</sup>Cardiología. España.

<sup>c</sup>Cirugía General. España.

<sup>d</sup>Anestesiología y Reanimación. España.

**Introducción:** La cirrosis hepática (CH) se asocia a alteraciones estructurales y funcionales cardíacas que se conocen como cardiomiopatía cirrótica. Se desconoce su evolución después del trasplante (TH). El fragmento N-terminal del péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) tiene una mayor sensibilidad que el BNP para la detección de insuficiencia cardíaca.

**Objetivos:** 1) Definir las alteraciones cardíacas en los pacientes con CH mediante: NT-proBNP, ecocardiograma-doppler y hemodinámica. 2) Correlacionar el NT-proBNP con la CH y la cardiomiopatía. 3) Describir la evolución post-TH de la cardiomiopatía.

**Material y métodos:** Se estudió a 100 pacientes, antes y después del TH, y 25 controles.

**Resultados:** Los parámetros ecocardiográficos y los niveles de NT-proBNP quedan resumidos en la tabla 1 en página siguiente. 1) Pre-TH presentan circulación hiperdinámica, hipertrofia ventricular izquierda, un alto porcentaje de disfunción diastólica y niveles elevados de NT-proBNP, respecto a los controles ( $p < 0,05$ ). 2) NT-proBNP mostró una correlación significativa con la clasificación de Child y el MELD score y existían niveles superiores en pacientes con ascitis, ascitis e insuficiencia renal y síndrome hepatorenal. Se comprobó una correlación significativa con: índice cardíaco ( $r = 0,38$ ), presión capilar pulmonar ( $r = 0,31$ ), resistencia vascular sistémica ( $r = -0,25$ ) e índice de masa ventricular ( $r = 0,29$ ). 3) Post-TH presentaban hipertrofia ventricular izquierda y disfunción diastólica con diferencias significativas respecto a controles y pre-TH, así como una disminución significativa del NT-proBNP sin alcanzar la normalidad.

**Conclusión:** Confirmamos la existencia de la cardiomiopatía cirrótica. El NT-proBNP tiene valor pronóstico en la progresión de la cirrosis y la cardiomiopatía pre y post-TH. Post-TH existe un deterioro de la función cardíaca que puede ser causa de morbimortalidad.

TABLA 1 Ecocardiograma y NT-proBNP en los diferentes grupos

	Pre-TH (N = 100)	Post-TH (N = 70)	Controles (N = 25)
NT-proBNP (pg/ml)	1551 ± 47 <sup>†</sup>	1150 ± 589 <sup>‡*</sup>	856 ± 123
Diámetro aurícula izquierda (mm)	42 ± 6 <sup>†</sup>	40 ± 4 <sup>‡</sup>	36 ± 4
Diámetro diastólico VI (mm)	52 ± 7 <sup>†</sup>	52 ± 6 <sup>‡</sup>	48 ± 5
Diámetro sistólico VI (mm)	31 ± 7	32 ± 5	30 ± 4
Tabique interventricular (mm)	10 ± 5 <sup>†</sup>	11 ± 2 <sup>‡*</sup>	8 ± 2
Pared posterior VI (mm)	10 ± 3	11 ± 1 <sup>‡*</sup>	8 ± 1
Índice de masa VI (g/m <sup>2</sup> )	106 ± 34 <sup>†</sup>	123 ± 35 <sup>‡*</sup>	75 ± 19
Fracción de eyección (%)	66 ± 9 <sup>†</sup>	63 ± 7 <sup>*</sup>	62 ± 4
Ratio E/A	1,17 ± 0,40	0,78 ± 0,25 <sup>‡*</sup>	1,20 ± 0,25
E (cm/s)	0,87 ± 0,22 <sup>†</sup>	0,66 ± 0,19 <sup>‡*</sup>	0,78 ± 0,08
A (cm/s)	0,76 ± 0,20	1,05 ± 1,31	0,66 ± 0,13
Presión pulmonar sistólica (mmHg)	34 ± 13	24 ± 7 <sup>*</sup>	28 ± 6

Diferencias significativas (p < 0,05) comparando: <sup>†</sup> pre-TH y controles; <sup>‡</sup> post-TH y controles; \* pre-TH y post-TH VI = ventrículo izquierdo

## VIRUS DE LA HEPATITIS B Y TRASPLANTE HEPÁTICO. EXPERIENCIA DE 20 AÑOS

I. Campos-Varela<sup>a</sup>, L. Castells<sup>a</sup>, V. Vargas<sup>a</sup>, F. Rodríguez-Frías<sup>b</sup>, I. Bilbao<sup>c</sup>, C. Dopazo<sup>c</sup>, M. Buti<sup>a</sup>, R. Charco<sup>c</sup>, R. Esteban<sup>a</sup> y J. Guardia<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Laboratorio de Bioquímica. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Unidad de Trasplante Hepático. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

**Objetivo:** Analizar la evolución de los pacientes trasplantados por hepatopatía crónica por VHB y los factores relacionados con la recurrencia del VHB y la supervivencia post-TH.

**Métodos:** Se han incluido todos los pacientes trasplantados por VHB entre 1988-2006 (n = 56). Se analiza la recurrencia post-TH según las pautas de profilaxis realizadas: 1) HBIG incompleta en 21,8% (12/55); 2) HBIG completa (al menos durante un año y un 80% de las dosis) en 7,3% (4/55); 3) HBIG con LAM en 70,9% (39/55) pacientes; y según el período de TH (1988-1996 y 1997-2006). Se comparó la supervivencia con la de los pacientes VHC y alcohólicos.

**Resultados:** Desde 1988 a 2006 se trasplantaron 740 pacientes, 56 (7,5%) por hepatopatía crónica por VHB. Uno falleció durante el TH y no se introdujo en el análisis. La edad media fue 51 años ± 9,7. En 51 se determinó el ADN-VHB pre-TH (en todos negativo con técnicas de detección con límite inferior a  $7 \times 10^5$  copias/ml). Se detectó la presencia de HBsAg en el 19,6% (11/56) de los pacientes y

la coinfección por VHC en 19% (11/56) y por VHD en 16% (9/56) pacientes. La recurrencia global fue del 19,6% (11 casos): 53,3% (9/16) durante el primer período y 5,1% (2/39) durante el segundo período, (p < 0,0001). Según la profilaxis, la recurrencia fue: 66,7% (8/12) en la HBIG incompleta, 25% (1/4) en la HBIG completa, y 5,1% (2/39) en HBIG más LAM, (p < 0,0001).

En el análisis univariado los factores asociados con la recurrencia del VHB post-TH fueron la pauta de profilaxis, el período de realización del TH y el fármaco anticalcineurínico. El análisis multivariado mostró como única variable asociada de forma independiente con la no recurrencia la administración de HBIG con LAM (p < 0,0001).

En el análisis univariado los factores asociados con la mejoría de la supervivencia post-TH fueron la pauta de profilaxis, el período de realización del TH y el fármaco anticalcineurínico. El análisis multivariado mostró como única variable asociada de forma independiente con la mejoría de la supervivencia el período de TH (p < 0,0001).

La supervivencia actuarial de los pacientes trasplantados por VHB comparada con otras etiologías globalmente no mostró diferencias (p = 0,39). Sin embargo, durante el segundo período, presentaron una mejor supervivencia actuarial en comparación con los grupos etiológicos (p = 0,02).

**Conclusiones:** La frecuencia de TH por VHB se ha mantenido estable a lo largo de los años (7,5%). La combinación de HBIG y LAM es la más eficaz, con una baja tasa de recurrencia (5,1%). Hay un aumento de supervivencia en los pacientes del segundo período. La causa es multifactorial, pero el hecho de que se produzca esta mejoría respecto al resto de etiologías, confirma la importancia de una profilaxis eficaz con HBIG y LAM.