

síndrome de respuesta inflamatoria sistémica en ausencia de shock séptico. Treinta y uno de los 110 pacientes (28%) presentaron insuficiencia renal (aumento del 50% de la creatinina sérica previa a la infección con un valor final > 1,5 mg/dl). En 20 pacientes (18%) la insuficiencia renal fue transitoria y en 11 (10%) persistente. La insuficiencia renal se caracterizó por una intensa vasoconstricción renal (índice de resistencia intrarrenal estimado por Doppler $0,83 \pm 0,09$), reducción de la presión arterial media e importante activación de los sistemas vasoconstrictores endógenos, en especial el sistema-renina-angiotensina y nervioso simpático. Estos parámetros fueron similares a los obtenidos en un grupo de pacientes con síndrome hepatorenal ($n = 11$), sin causa desencadenante conocida, estudiados de forma simultánea. En el análisis multivariado sólo el desarrollo de insuficiencia renal y la puntuación de Child-Pugh fueron factores predictivos independientes de mal pronóstico. La probabilidad de supervivencia a los 3 meses de la infección en los pacientes con insuficiencia renal fue de 41% marcadamente inferior al 88% ($p < 0,0001$) de los pacientes con infección sin insuficiencia renal y sin diferencia con respecto a la de los pacientes con síndrome hepatorenal (18%, $p = 0,61$). De entre los pacientes con insuficiencia renal el peor pronóstico correspondió a los pacientes con insuficiencia renal persistente (probabilidad de supervivencia a los 3 meses de 9% en comparación con el 59% de los pacientes con insuficiencia renal transitoria, $p = 0,0001$). Estos resultados indican que el desarrollo de insuficiencia renal en pacientes con cirrosis e infecciones bacterianas, distintas de la PBE, asociadas a signos de respuesta inflamatoria sistémica, es muy frecuente. La patogenia y el curso clínico son similares a la insuficiencia renal que ocurre en el contexto de la peritonitis bacteriana espontánea y al síndrome hepatorenal. El mal pronóstico de esta complicación obliga a considerar a los pacientes como candidatos a trasplante hepático y a diseñar estrategias terapéuticas para su prevención y/o tratamiento.

TRASPLANTE HEPÁTICO EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

X. Xirol, A. Rafecas, G. Rufi, J. Castellote, J. Fabregat, N. Chahri, J. Gornals, C. Baliellas y J. Figueiras

Unidad de Trasplante Hepático Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet.

La infección por el VIH era considerada una contraindicación absoluta para el trasplante hepático (THO). Sin embargo, al mejorar con el tratamiento antirretroviral el pronóstico de la infección por el VIH, muchos de estos pacientes fallecen por una enfermedad hepática avanzada. Por ello se ha iniciado un programa piloto de THO en pacientes VIH+. A partir de enero de 2002, 4 pacientes infectados por el VIH, recibieron un THO en nuestro centro. Los cuatro eran varones ex-ADVP, tenían cirrosis hepática VHC+ sin enolismo activo de por lo menos 1 año. El trasplante fue por ascitis y mala función hepática en 3 casos, y hepatocarcinoma en uno. Tres tenían 36 años y uno 45. La duración de la infección por el VIH oscilaba entre 15 meses y 13 años. Los genotipos del VHC eran: 1b en tres casos y 4 en el otro. Todos los pacientes recibían tratamiento antirretroviral, sus niveles de CD4 eran superiores a 200 células/ μ l y la carga viral era indetectable. El seguimiento después del THO ha sido de 22, 15, 10 y 4 meses. La inmunosupresión consistió en basiliximab y ciclosporina, sin corticoides. Hubo un episodio de rechazo agudo que se resolvió con bolus de corticoides y ninguno ha presentado infecciones oportunistas. Los cuatro pacientes han presentado recidiva del virus C. El primero (genotipo 4) presenta una recidiva histológicamente muy leve y no ha recibido tratamiento. El segundo y el tercero actualmente reciben tratamiento con interferón y ribavirina, uno ha completado 6 meses de tratamiento y ha negativizado el RNA del VHC. El último ha presentado la recidiva recientemente. Ninguno ha presentado problemas relacionados con la infección por el VIH ni con el tratamiento antirretroviral.

Conclusión: Los pacientes cirróticos VIH positivo presentan una evolución a corto plazo tras el trasplante hepático similar a la de los pacientes VIH negativo. Los pacientes infectados por el VIH con enfermedad hepática terminal y en condiciones de estabilidad (CD4 > 200 y carga viral indetectable) no deberían ser excluidos de la posibilidad de recibir un trasplante hepático.

TRASPLANTE HEPÁTICO POST RESECCIÓN QUIRÚRGICA DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR. INDICACIÓN BASADA EN RIESGO ELEVADO DE RECIDIVA.

M. Sala^a, J.M. Llovet^a, J. Fuster^b, J.C. García-Valdecasas^b, M. Navasa^a, M. Varela^a, M. Solé^c, A. Rimola^a y J. Brux^a

^aOncología Hepática, Unidad de Hepatología, IMD IDIBAPS. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona, ^bCirugía General y Digestiva, IMD IDIBAPS. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona, ^cServicio de Anatomía Patológica IDIBAPS. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona

La resección quirúrgica del carcinoma hepatocelular (CHC) proporciona una supervivencia a los 5 años > 70% en pacientes bien seleccionados (bilirrubina normal, ausencia de hipertensión portal significativa (HVPG < 10 mmHg)). Sin embargo, la elevada incidencia de recidiva empeora los resultados obtenidos a largo plazo. El trasplante hepático (TOH) ofrece una supervivencia similar pero con una menor tasa de recidiva. En algunos pacientes con recidiva post resección quirúrgica puede indicarse TOH, pero sólo será posible realizarlo en tumores metacrónicos, ya que aquellos que procedan de una diseminación tumoral habitualmente se detectarán en una fase avanzada. Dado que el elevado riesgo de recidiva se puede establecer por la presencia de invasión vascular o nódulos satélites en la pieza de resección, en nuestro grupo se decidió proponer TOH en aquellos pacientes tratados inicialmente con resección quirúrgica en los que se detecta este patrón anatómico patológico de riesgo.

Resultados: Entre enero de 1995 y agosto 2002 se evaluaron 1.415 pacientes con CHC. La resección quirúrgica se indicó a 65 pacientes, pero sólo 16 (25%) (todos cirróticos, 13 VHC+) eran candidatos óptimos para resección (1^a opción) y TOH (edad ≤ 65 años sin enfermedades graves asociadas). Siete pacientes mostraron invasión vascular microscópica y/o nódulos adicionales en el estudio anatómico-patológico, por lo que se les ofreció TOH a pesar de no demostrarse enfermedad neoplásica residual. Dos pacientes lo rechazaron, desarrollando durante el seguimiento posterior un CHC multinodular. Los 5 pacientes restantes se incluyeron en lista de trasplante (tiempo medio desde resección al TOH: 13 m). Se identificó tumor residual en el explante de todos los pacientes excepto uno (75%). Uno de los pacientes desarrolló diseminación extrahepática tras el TOH, falleciendo a los 4 m. Ningún otro paciente presentó recidiva (media de seguimiento 42 m). Únicamente 2 de los 9 pacientes sin factores de riesgo anatomo-patológico desarrollaron un CHC. Uno de ellos presentó un CHC multinodular que no permitía el TOH mientras que otro fue diagnosticado de un CHC único a los 18 meses tras la resección, realizándose TOH.

Conclusión: Los parámetros anatómo-patológicos obtenidos tras la resección del CHC, permiten identificar a los pacientes con un mayor riesgo de recidiva y por tanto incluirlos en la lista de TOH a pesar de no existir enfermedad residual. La aplicación de esta estrategia contribuirá a mejorar los resultados a largo plazo de los pacientes sometidos a resección quirúrgica y evitar o retrasar el TOH en los pacientes que presentan un bajo riesgo de recidiva.

Patología pancreática

EFEKTOS DE ICI 192605 (ANTAGONISTA DE RECEPTORES DE TROMBOXANO A2) Y DE ANTIOXIDANTES EN LA DISFUNCIÓN RENAL INDUCIDA POR PANCREATITIS AGUDA

J.A. Gómez Valero, X. Molero Richard, A. Alonso Rodríguez y J.R. Malagelada Benaprés

Aparell Digestiu Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

La función renal puede deteriorarse en el curso de una pancreatitis aguda y puede significar el inicio de fallo multiorgánico. Ningún tratamiento específico se ha demostrado efectivo en prevenir la insuficiencia renal asociada a una pancreatitis aguda, con excepción

de la aplicación de un soporte hemodinámico intensivo. Por otro lado, la pancreatitis aguda genera estrés oxidativo que, a su vez, induce la formación de moléculas bioactivas como los 8-isoprostanos que son capaces de inducir vasoconstricción renal, probablemente a través de receptores de tromboxano A2. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar el efecto de antioxidantes y de un antagonista de los receptores del tromboxano A2 en la disfunción renal secundaria a pancreatitis aguda experimental.

Métodos: En ratas wistar de 350 g se indujo pancreatitis aguda edematosa (PE) mediante hiperestimulación con ceruleína (40 µg/kg ip x4, en dosis espaciadas cada 60 minutos) y pancreatitis necrotizante (PN) mediante inyección intraductal de taurocolato (3,5%, 0,4 ml). Se evaluó la función renal a las 36 horas (PE) y a las 72 horas (PN) de la inducción de pancreatitis mediante la determinación del clearance de creatinina y la excreción fraccional de sodio). Grupos independientes de ratas con PE o PN recibieron, además, una combinación de antioxidantes (N-acetylcisteína 200 mg/kg/d + ácido lipídico 10 mg/kg/d + trolox 2,5 mg/kg/d, i. p.) desde 72 h antes de la inducción de pancreatitis, o el antagonista del receptor del tromboxano A2 ICI192605 (4 mg/kg/12 h, i. p.) desde 24 h antes de la inducción. Antes del sacrificio de los animales se obtuvo sangre y se recogió la orina de 24 horas.

Resultados: El clearance de creatinina descendió en PE ($0,39 \pm 0,1$) y aún más en PN ($0,18 \pm 0,1$ ml/min) comparado con el grupo control ($0,7 \pm 0,1$; $p < 0,01$). La administración de antioxidantes e ICI 192605 mejoró el clearance de creatinina tanto en PE ($0,8 \pm 0,05$ y $0,52 \pm 0,06$; $p < 0,02$) como en PN ($0,45 \pm 0,18$ y $0,52 \pm 0,06$; $p < 0,003$). La excreción fraccional de sodio se redujo en ambas formas de pancreatitis (PE: $0,31 \pm 0,08\%$; PN: $0,19 \pm 0,03\%$) comparadas a controles ($0,79 \pm 0,1\%$) ($p < 0,005$ y $p < 0,001$ respectivamente). Los antioxidantes también mejoraron la excreción fraccional de sodio, tanto en PE ($0,6 \pm 0,03$ $p < 0,02$) como en PN ($0,42 \pm 0,06$ $p = 0,01$), pero ICI192605 no obtuvo resultados satisfactorios ($0,12 \pm 0,001$ y $0,22 \pm 0,05$ respectivamente).

Conclusión: La función renal está deteriorada en la pancreatitis edematosa y necrotizante. Los antioxidantes mejoran esta disfunción renal, un efecto que es parcialmente reproducido por antagonistas del receptor del tromboxano A2.

INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULAS ESTRELLADAS DEL PANCREAS MEDIANTE TERAPIA ANTIOXIDANTE

E.C. Vaquero Raya, X. Molero Richard y J. Malagelada Benaprés
Aparato Digestivo Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

La activación de las células estrelladas del páncreas (CEPs) constituye un hecho clave en la reparación pancreática. Dado el gran potencial fibrogénico de las CEPs, su eliminación mediante un proceso de apoptosis es esencial para concluir la reparación y evitar la progresión hacia la fibrosis pancreática. Por tanto, la inducción de apoptosis en las CEPs puede ser un punto crítico en el desarrollo de terapias antifibrogénicas para la pancreatitis crónica. Dado que las especies reactivas de oxígeno (ROS) son un potente estímulo para la activación de las CEPs, nuestra HIPOTESIS es que estos mediadores podrían a su vez contarrestar la eliminación por apoptosis de las CEPs.

Objetivos: Estudiar la producción endógena de ROS y su papel como mediadores antiapoptóticos en las CEPs activadas.

Métodos: Las células estrelladas fueron obtenidas a partir de páncreas de ratas Wistar adultas e incubadas sobre superficie de plástico (para inducir y mantener su fenotipo activo) en medio de cultivo D-MEM/F-12 suplementado con 15% de suero fetal bovino. Las CEPs fueron caracterizadas por la expresión de a-actina del músculo liso, desmina y proteína acídica de la glia fibrilar tras tinción inmunocitoquímica. Para investigar el efecto de los antioxidantes las células fueron incubadas en presencia de N-acetil cisteína -NAC- (5, 10, 20 mM), succinato de a-tocoferol -VES- (10, 25, 50 µM) o Trolox, una forma hidrosoluble de la vitamina E (500 µM, 1 mM). Tras 24 ó 48 h de incubación, se analizó el nivel intracelular de ROS mediante la sonda 2,-7-dichlorodihidrofluorescein diacetato,

cuya oxidación intracelular es detectable mediante citometría de flujo. La apoptosis se determinó mediante cuantificación de la fragmentación de DNA por técnica de ELISA y de la actividad de caspasa-3 por fluorimetría. La toxicidad de los fármacos se descartó mediante la exclusión celular de yoduro de propidio.

Resultados: NAC (20 mM), VES (50 µM) y Trolox (1 mM) redujeron notablemente el nivel intracelular de ROS en las CEPs. El efecto antioxidante se acompañó de un aumento significativo en la fragmentación de DNA (NAC: $2,75 \pm 0,13$; VES: $2,2 \pm 0,5$; Trolox: $1,77 \pm 0,33$ vs. células no tratadas; $p < 0,05$) y en la actividad de caspasa-3 (NAC: $2,72 \pm 0,35$; VES: $4,46 \pm 1,4$; Trolox: $3,18 \pm 0,76$ vs. células no tratadas; $p < 0,05$). Ambos efectos fueron prevenidos mediante la adición del inhibidor de caspasas zVAD-fmk (100 µM), demostrando que este proceso de apoptosis es dependiente de la acción de caspasas. La reducción intracelular de ROS inducida por los diferentes antioxidantes fue dosis dependiente, lo cual se correlacionó estrechamente con la inducción de apoptosis.

Conclusiones: Estos resultados ponen de manifiesto que los ROS endógenos se comportan como señales antiapoptóticas en las CEPs activadas. Por tanto, la terapia antioxidante podría favorecer en la resolución de la fibrosis pancreática mediante la inducción de apoptosis en la PSC.

MUTACIONES EN LOS GENES SPINK1 Y CFTR EN PACIENTES CON PANCREATITIS CRÓNICA

A. Alonso Rodríguez^a, L. Guarner Aguilar^a, X. Molero Richard^a, L. Subirana^b, N. Malats^c, T. Casals^d, N. Nogués^b, M. Porta^c, F. Real^e y J.R. Malagelada Benaprés^a

^aAparell Digestiu Hospital Vall d'Hebron. Barcelona, ^bCentre de Transfusió i Banc de Teixits Hospital Vall d'Hebron. Barcelona,

^cEpidemiología Institut Municipal d'Investigació Mèdica. Barcelona,

^dCentre de Genética Mèdica y Molecular Institut de Recerca Oncològica. L'Hospitalet de Llobregat, ^eUnidad de Biología Molecular Institut Municipal d'Investigació Mèdica. Barcelona.

Mutaciones en los genes que codifican el inhibidor de serin-proteínas Kazal tipo 1 (SPINK1) y el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) se han asociado a pancreatitis crónica. La prevalencia de mutaciones en estos dos genes en pacientes con pancreatitis crónica en España es desconocida.

Objetivo: Determinar la prevalencia de mutaciones en los genes SPINK1 y CFTR en pacientes con pancreatitis crónica en sus formas idiopática (PCI) y alcohólica (PCA) en España.

Pacientes y métodos: Se extrajo DNA genómico a partir de leucocitos de sangre periférica. Se procedió a secuenciación directa de los 4 exones y de sus áreas flanqueantes del gen SPINK1 tras amplificación mediante PCR. Las mutaciones en los 27 exones y en sus regiones colindantes del gen CFTR se analizaron mediante electroforesis en gel de gradiente desnaturizante después de amplificación por PCR simple o múltiple. Se secuencian las muestras de DNA que mostraron un cambio en la movilidad en el gel.

Resultados: La mutación N34S en el gen SPINK1 se encontró en 3 de 89 pacientes con PCA (3,4%), en 3 de 39 con PCI (7,7%) y en 0 de 53 sujetos sanos. Además, se halló una nueva mutación en un paciente con PCI en la unión exón/intrón del exón 3 (IVS3+1G > A), un área que es importante para el correcto splicing del RNA. También se hallaron otros polimorfismos del gen SPINK1 de relevancia dudosa, ya que se encontraron tanto en pacientes como en controles sanos. El gen CFTR estaba mutado en el 46% (11/24) de los pacientes con PCA y en el 20% (4/20) de los pacientes examinados con PCI. La substitución nucleotídica más común fue 1716G > A en el 21% de los pacientes con PCA (esta mutación está presente en el 12% de controles no seleccionados), y G576A+R668C en el 12,5% de pacientes con PCA (< 2% en controles).

Conclusiones: En España la mutación N34S del gen SPINK1 está presente en algunos pacientes con pancreatitis crónica alcohólica o idiopática. Por el contrario, las mutaciones que afectan a CFTR son muy prevalentes en ambos grupos de pacientes con pancreatitis crónica.

PRUEBA DEL ALIENTO DE HIDRÓGENO CON HARINA DE ARROZ EN EL RECONOCIMIENTO DE LA INSUFICIENCIA PANCREÁTICA

F. Casellas Jordà, L. Guarner Aguilar, M. Antolín y J.R. Malagelada Benaprés

Servicio de Digestivo Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Las pruebas del aliento de hidrógeno (H_2) se utilizan en el diagnóstico de la malabsorción intestinal de carbohidratos. La insuficiencia pancreática exocrina grave causa una reducción significativa en la absorción de carbohidratos complejos. Por ello se ha sugerido que la prueba de aliento de H_2 utilizando almidón como substrato podría ser capaz de reconocer un grado avanzado de insuficiencia pancreática al aparecer una excesiva producción de H_2 proveniente de la fermentación en el colon del substrato malabsorbido. Se ha comparado la eficacia de la prueba de aliento de H_2 utilizando dosis elevadas de harina de arroz (100 g) como substrato con las pruebas del PABA y pancreolauril, y con los niveles fecales de grasa o quimotripsina, con resultados contradictorios. Sin embargo, no se ha comparado la prueba del aliento de H_2 con medidas directas de la función pancreática.

Objetivo: Determinar si la prueba de aliento de H_2 con dosis bajas de harina de arroz se relaciona con la insuficiencia pancreática medida con una prueba de función directa.

Método: Se han estudiado pacientes con insuficiencia pancreática diagnosticada y cuantificada mediante perfusión duodenal y medida de la producción de tripsina y lipasa tras estímulo EV con ceruleína, a los que se realizó la prueba del aliento de H_2 administrando por vía oral 30 g. de harina de arroz en 250 ml de agua y recogiendo muestras del aire exhalado alveolar cada 30 min durante 5 horas. La concentración de H_2 se midió mediante cromatógrafo de gases Quintron, expresándose los resultados de la excreción basal de H_2 y el incremento máximo como medianas (percentiles 25-75).

Resultados: Se han incluido 10 pacientes (8 hombres y 2 mujeres, con una mediana de edad de 51 años) con insuficiencia pancreática moderada o grave debida a pancreatitis crónica, pancreatectomía total o fibrosis quística. El débito intraduodenal de lipasa y tripsina tras el estímulo con ceruleína fue anormalmente baja en todos los pacientes (1,7 [0,5-4,5] y 0,8 [0,1-11,3] KU/h respectivamente). La excreción basal de H_2 fue de 9 (7-17) ppm y el incremento máximo sobre la basal de 4 (1-6) ppm. No se observó una adecuada correlación entre la producción de H_2 y los niveles intraduodenales de lipasa o tripsina, tanto basales como estimulados ($r < 0,4$). Se detectó incremento en la excreción de H_2 en 5 pacientes: de 27 ppm en un caso asociado a sobrecrecimiento bacteriano (prueba del aliento con glucosa patológica), de 10 ppm en un caso y de 6 ppm en otros 3.

Conclusión: La insuficiencia pancreática causa aumento en la excreción de H_2 tras la ingesta de dosis bajas de harina de arroz pero que tiene un dudoso valor diagnóstico por la influencia de factores extrapancreáticos como puede ser el sobrecrecimiento bacteriano.

TRATAMIENTO PRECOZ CON INTERLEUKINA-10 (IL-10) EN LA PANCREATITIS AGUDA GRAVE

C. Abadía de Barbarà Marin*, A. Villoria*, X. Molero*, A. Álvarez**, M. Antolín*, L. Guarner* y J.R. Malagelada*

*Servicio de Aparato Digestivo Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, **Servicio de Radiología Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: En la pancreatitis aguda grave se liberan citoquinas proinflamatorias como la IL-6, IL-1 y el TNF. Sus niveles plasmáticos se correlacionan con la severidad de la enfermedad y con la aparición de fallo multiorgánico. En cambio, la IL-10 parece que actúa disminuyendo los efectos de las citoquinas proinflamatorias. En humanos, la concentración de IL-10 es mayor en la pancreatitis leve que en las formas graves de la enfermedad. En la pancreatitis experimental tanto la administración profiláctica como la terapéutica de IL-10 disminuyen la severidad de la enfermedad. Estos datos

sugieren que la administración de IL-10 podría tener efectos beneficiosos en la pancreatitis aguda en humanos.

Objetivo: Determinar los efectos de la administración precoz de IL-10 en la evolución de la pancreatitis aguda grave en humanos.

Métodos: Estudio piloto, prospectivo y doble ciego incluyendo 15 pacientes con pancreatitis aguda grave (estadio C, D o E de Balthazar). Los pacientes se incluyan en las primeras 36 horas desde el inicio de los síntomas y eran randomizados en dos grupos para recibir infusión de IL-10 (8 micrg/Kg/día n = 8) o bien placebo (n = 7) durante 7 días. Se cuantificó la morbilidad mediante la puntuación de fallo orgánico (Bernard et al. 1995) y se determinaron los niveles plasmáticos de IL-6 y PCR (proteína C reactiva) al ingreso y cada 2 días. También se realizó un TAC abdominal semanal a cada paciente durante su hospitalización y antes del alta.

Resultados: No se apreciaron diferencias significativas entre el grupo de pacientes tratados con IL-10 y el grupo placebo en: días de estancia hospitalaria (23+13 vs 18+4 días), puntuación del TAC abdominal así como del fallo multiorgánico y complicaciones locales. Desarrollaron fallo orgánico 4/8 (50%) de los pacientes del grupo IL-10 y 3/7 (43%) del grupo placebo. En el momento de la inclusión al estudio 3/15 (20%) de los pacientes ya presentaban fallo orgánico y 4/15 (27%) desarrollaron nuevo fallo orgánico durante su evolución. No hubo diferencias significativas entre el grupo IL-10 y el grupo placebo en la PCR (3525+862 vs 2265+370 mg/dl respectivamente) o de IL-6 (8021+2559 vs 9741+2152 pg/ml respectivamente) calculado mediante el área bajo la curva en los primeros 11 días. Un paciente requirió intervención quirúrgica, y posteriormente falleció, en el grupo de IL-10.

Conclusión: el tratamiento precoz con IL-10 no modifica la evolución de la pancreatitis aguda grave.

Patología inflamatoria gastrointestinal

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADAS A LAS LESIONES DE LA MUCOSA INTESTINAL EN MUESTRAS FRESCAS DE INTESTINO DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CROHN

X. Fuentes García*, M. Martínez*, X. Aldeguer Manté** y F. González-Huix Lladó**

*Laboratori de Microbiología Molecular Universitat de Girona. Girona, **Digestiu Hospital Universitari Dr. Josep Trueta. Girona.

La posible etiología bacteriana de la enfermedad de Crohn (EC) ha sido explorada. Hasta ahora, la mayoría de trabajos bacteriológicos realizados han utilizado aproximaciones clásicas basadas en el aislamiento y cultivo de cepas procedentes de material fecal.

Objetivo: Detectar aquellas bacterias que se encuentren asociadas a las lesiones ulcerosas típicas de la mucosa intestinal de pacientes con EC a través del análisis molecular de las comunidades bacterianas presentes en muestras frescas intestinales obtenidas durante la colonoscopia.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 15 muestras (9 del colon, 5 de ileon y 1 de recto), 7 son de mucosa normal y 8 de afectada. Total de 7 enfermos, 4 hombres y 3 mujeres, de $26,8 \pm 9,8$ años, (entre 15 y 44 años), con brote de EC (4 leves y 3 moderados), más una muestra de un paciente sano. Se ha separado la microflora circulante de aquella que se encuentra asociada al tejido intestinal con la disgregación mecánica de las bacterias no adheridas a la mucosa. Para su análisis, se han comparado las impresiones moleculares en un gel de poliacrilamida desnaturizante (DGGE) a partir de un fragmento del gen 16S rDNA por PCR y se han analizado las secuencias claramente asociadas a tejidos lesionados y a las áreas no afectadas.