

PÓSTERS

Complicaciones de la cirrosis

NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS PARA AUMENTAR LA BIODISPONIBILIDAD DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL HÍGADO CIRRÓTICO. REDUCCIÓN DE LOS NIVELES DE SUPERÓXIDO

A. Rodríguez-Vilarrupla, J. Gracia-Sancho, B. Laviña, H. García-Calderó, M. Fernández, J. Bosch y J.C. García-Pagán
Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic. IDIBAPS. Ciberhd. Barcelona.

Antecedentes: La menor biodisponibilidad intrahepática de óxido nítrico (ON) a nivel endotelial es uno de los mecanismos responsables del aumento del tono vascular intrahepático en la cirrosis, que contribuye al desarrollo de hipertensión portal. Nuestro grupo ha sugerido que el aumento de superóxido (O₂⁻) que se halla en el hígado cirrótico, en parte secundario a un déficit de la enzima superóxido dismutasa (SOD), al reaccionar con ON podría contribuir a disminuir su biodisponibilidad.

Objetivos: Evaluar la interacción O₂⁻/ON en células endoteliales (CE), determinar si estrategias dirigidas a disminuir O₂⁻ son capaces de aumentar eficazmente la biodisponibilidad de ON e investigar el papel de distintos sistemas enzimáticos como posibles fuentes del aumento de estrés oxidativo en la cirrosis.

Métodos: La modulación de ON por O₂⁻ fue evaluada determinando los niveles de O₂⁻ y de ON, por microscopía confocal mediante las moléculas fluorescentes dihidroetidio (DHE) y DAF-FM en 1) CE sinusoidales (SEC) de ratas control tratadas con vehículo o con el inductor de estrés oxidativo, DDC, y posterior incubación con SOD, y 2) CE de aorta bovina (BAEC) transfectadas con adenovirus-EcSOD o adenovirus-bgalactosidasa (bgal), y tratadas con vehículo o paraquat (inductor de estrés oxidativo). El papel de eNOS, COX y XO en la producción de O₂⁻ se evaluó determinando los niveles de O₂⁻, por microscopía confocal mediante tinción con DHE, en hígados de ratas cirróticas tratadas con sus inhibidores específicos.

Resultados: Las SEC tratadas con DDC mostraron un aumento de los niveles de O₂⁻ que se acompañó de una reducción de la biodisponibilidad de ON. La administración de SOD atenuó el aumento de O₂⁻ y la reducción de la biodisponibilidad de ON. En BAEC, la incubación con paraquat provocó un marcado incremento de O₂⁻ y una reducción de ON. La sobreexpresión de SOD previno el aumento de O₂⁻ y la reducción de ON provocada por paraquat. La inhibición de COX y XO pero no de eNOS, redujo los niveles de O₂⁻ del hígado cirrótico.

Conclusiones: El aumento de estrés oxidativo observado en el hígado cirrótico, debido en parte a un aumento de su producción por COX y XO, contribuye a reducir la biodisponibilidad de ON. Nuestros resultados señalan nuevas dianas terapéuticas potenciales, tanto inhibiendo la producción como aumentando la degradación de O₂⁻, para aumentar la biodisponibilidad de ON y por tanto reducir la resistencia intrahepática y la presión portal en la cirrosis.

LA ACTIVACIÓN DE LA GUANILATO CICLASA POR ÓXIDO NÍTRICO EN LINFOCITOS COMO MARCADOR PERIFÉRICO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA (EHM) EN PACIENTES CIRRÓTICOS

C. Montoliu^{a,c}, A. Urios^b, J. A. Del Olmo^c, M. A. Serra^c, J. M. Rodrigo^c y V. Felipo^b

^aFundación Investigación Hospital Clínico de Valencia. ^bLaboratorio de Neurobiología, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia.

^cServicio de Hepatología, Hospital Clínico Universitario de Valencia.

La escala psicométrica de encefalopatía hepática (PHES) ha sido validada para el diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima

(EHM), estando disponibles las tablas de normalidad para la población española (<http://www.redeh.org>). Se ha propuesto que la determinación de la frecuencia crítica de parpadeo (FCP) podría ser más útil en el diagnóstico de la EHM porque no depende de la edad, nivel educativo, etc.

Se ha comprobado que la homeostasis del GMPc está alterada en cerebro en modelos animales de hiperamonemia y fallo hepático crónicos y que esta alteración es la causa de la disminución de la capacidad de aprendizaje de al menos algunos tipos de tareas. Además la manipulación farmacológica de los niveles de GMPc en cerebro restaura la capacidad de aprendizaje en estos modelos animales. En pacientes fallecidos con cirrosis hepática, la activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico está alterada en corteza cerebral del mismo bodeque en los modelos animales. Esta alteración se reproduce en linfocitos de pacientes con cirrosis. Por tanto es posible que la activación de la guanilato ciclasa en linfocitos y/o algún otro parámetro medible en sangre de pacientes con cirrosis y relacionado con la homeostasis del GMPc (ILs, amonio, óxido nítrico,...) pudiera servir como marcador periférico de la presencia de encefalopatía hepática mínima.

Objetivo: Evaluar si hay correlación entre las alteraciones en diferentes parámetros implicados en la modulación de los niveles de GMPc y la presencia de EHM en pacientes con enfermedad hepática.

Resultados: Se han estudiado 46 pacientes cirróticos y 26 controles. Pacientes con EHM presentaban mayores niveles de activación de guanilato ciclasa por óxido nítrico en linfocitos y de GMPc en plasma y frecuencia crítica de parpadeo más baja que pacientes sin EHM. Los niveles de amonio, metabolitos del óxido nítrico y péptido atrial natriurético (ANP) están aumentados en pacientes con respecto a controles, sin diferencias entre pacientes con y sin EHM.

Conclusiones: La alteración en la activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico en linfocitos se correlaciona con los resultados de PHES, frecuencia crítica de parpadeo y niveles de amonio. La alteración en la modulación de la guanilato ciclasa por NO en cerebro podría jugar un papel en la patogenia de la EHM. La activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico en linfocitos podría ser útil como marcador periférico de la presencia de la EHM.

APLICACIÓN DE UN NUEVO MODELO PRONÓSTICO DE SUPERVIVENCIA PARA PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA

E. Vilar Gómez, L. Calzadilla Bertot, E. Arus Soler, V. Grá Oramas, P. Llanio Navarro y M. Castellanos Fernández

Instituto Nacional de Gastroenterología. La Habana. Cuba.

Introducción: Los modelos pronósticos Child-Pugh y MELD han sido las herramientas diagnósticas más utilizadas para predecir la mortalidad de pacientes con cirrosis hepática; sin embargo, los mismos presentan algunas desventajas que limitan su utilidad en la práctica clínica.

Objetivos: Evaluar la capacidad de un modelo pronóstico, basado en variables clínicas y bioquímicas, para predecir la mortalidad a corto, mediano y largo plazo de pacientes con cirrosis hepática comparado con los modelos de Child-Pugh y MELD; e identificar los factores que están relacionados a la mortalidad.

Métodos: Se realizó un estudio de cohorte con 169 pacientes cirróticos que fueron seguidos durante el período de Mayo del 2004 y Enero del 2007 en la consulta de hepatología del Instituto Nacional de Gastroenterología (centro terciario). La determinación de variables asociadas a mortalidad fue analizada a través del modelo regresión de Cox. Los factores que estuvieron independientemente asociados a mortalidad en el modelo univariado fueron incluidos en la confección del modelo pronóstico. El mismo fue convalidado por variables bioquímicas (creatinina y bilirrubina) y clínicas (ascitis, encefalopatía y sangramiento variceal). La confección del nuevo modelo pronóstico estuvo basado en los coeficientes de regresión

del modelo de Cox y el valor individual de cada variable. El valor predictivo del modelo fue analizado mediante el programa c-statistic (curvas ROC). Su precisión para predecir mortalidad fue evaluada a las 4, 12, 24, 52 y 104 semanas y el mismo fue comparado con Child-Pugh y MELD.

Resultados: El modelo univariado mostró a la bilirrubina, creatinina, ascitis, encefalopatía y sangramiento variceal como factores independientes predictivos de mortalidad ($P < 0,001$) a las 104 semanas. Dichas variables conformaron el modelo pronóstico propuesto (BioClim). El modelo multivariado de regresión de Cox identificó la ascitis (Riesgo relativo (RR): 10, IC del 95%: 4-27), el sangramiento variceal (RR: 3.3, IC del 95%: 1-11) y la creatinina (RR: 4, IC del 95%: 1-10) como variables asociadas de forma independientes a la mortalidad. La capacidad de BioClim para predecir mortalidad fue superior a Child-Pugh y MELD durante las 104 semanas de seguimiento. El modelo BioClim obtuvo mayor poder de discriminación (c-statistic: 0,94, 0,94, 0,91, 0,91, 0,91) comparado con el modelo MELD (c-statistic: 0,83, 0,86, 0,79, 0,82, 0,81) y el Child-Pugh (c-statistic: 0,84, 0,86, 0,79, 0,82, 0,81), durante las semanas 4, 12, 24, 52 y 104, respectivamente ($P < 0,001$).

Conclusiones: Nuestros datos sugieren que el nuevo modelo pronóstico es capaz de predecir de forma muy precisa la mortalidad a corto, mediano y largo plazo de pacientes con cirrosis hepática; sin embargo, recomendamos su validación antes de implementarlo en la práctica clínica diaria.

ESTUDIO PROSPECTIVO MULTICÉNTRICO DE 163 PACIENTES CON SÍNDROME DE BUDD-CHIARI: RESULTADOS DEL EUROPEAN NETWORK FOR VASCULAR DISORDERS OF THE LIVER (EN-VIE)

M. Hernández-Guerra, J.C. García-Pagán for the EN-Vie Hospital Clínic, Barcelona.

Introducción: El síndrome de Budd-Chiari (SBC) es una enfermedad poco frecuente pero potencialmente grave. No existen guías de tratamiento y las recomendaciones actuales de manejo de esta enfermedad se basan en series retrospectivas.

Objetivos: Evaluar de forma prospectiva la evolución de enfermos con SBC tratados siguiendo las recomendaciones del grupo EN-Vie entre Octubre/2003 hasta Oct/2005 en centros colaboradores de 9 países europeos, que fueron registrados por una red de centros coordinadores y seguidos hasta su muerte o el fin del estudio. Se recogieron variables clínicas y analíticas, y se obtuvieron muestras sanguíneas para completar el estudio etiológico.

Resultados: Se incluyeron 163 pacientes (93 mujeres; mediana 38 años, rango 16-83) de un total de 210 con sospecha inicial de SBC (en 39 centros hospitalarios) que fueron seguidos durante una mediana de 17 meses (0,1-31). En el momento del diagnóstico el 50% de los enfermos presentaba obstrucción pura de las venas hepáticas, obstrucción aislada de la vena cava inferior el 2% y ambas el 47%. Se asoció trombosis portal en el 15% de casos. Se diagnosticó un síndrome mieloproliferativo (SMP) en un 47%. La mutación del gen V617-JAK2 estuvo presente en el 29% del total de enfermos. Otros factores procoagulantes fueron: la mutación C677T-MTHFR (52%), factor V Leiden (14%) y mutación del gen protrombina (4%). Los pacientes fueron tratados con anticoagulación ($n = 141$, 87%), TIPS ($n = 64$, 39%) y/o trasplante hepático ($n = 20$, 12%). Sólo 3 pacientes recibieron cirugía derivativa y 7 fueron tratados con técnicas de recanalización. En el 47% ($n = 77$) de los casos el manejo terapéutico fue no-invasivo. La tasa de mortalidad a los 6, 12 y 24 meses fue del 90%, 87% y 80% respectivamente. Veintinueve pacientes (18%) fallecieron durante el seguimiento, siendo el fallo hepático la principal causa ($n = 8$). La mortalidad post-trasplante fue del 10%.

Conclusión: En el SBC el SMP debe ser la principal sospecha etiológica. El algoritmo terapéutico propuesto por el grupo EN-Vie basado en anticoagulación y TIPS, con trasplante de rescate, resulta eficaz con una alta tasa de supervivencia.

Financiado en parte por V programa marco (QLG1-CT-2002-01686) y la Fundación para el estudio de las enfermedades del hígado.

PROFILAXIS CON KETOTIFEN DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL EN LA RATA: IMPLICACIÓN DE LAS CÉLULAS CEBADAS Y DE LOS EICOSANOIDES

M.A. Aller^a, F. Sánchez-Patán^a, E. Vara^b, C. García^b, Y. Saavedra^c, P. Vergara^c, C. Cuellar^d, M. Rodero^d, R. Anchuelo^a y J. Arias^a

^aDpto. Cirugía I. Facultad de Medicina. UCM. ^bDpto de Bioquímica y Biología Celular. Facultad de Medicina. UCM. ^cDpto. de Parasitología. Facultad de Farmacia. UCM. ^dDpto. de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

Introducción: La demostración previa de un aumento de la infiltración por células cebadas en el intestino delgado y en los ganglios linfáticos mesentéricos en ratas con hipertensión portal (HTP) permite hipotetizar que ésta célula inflamatoria esencial estaría implicada en la patogenia de las alteraciones esplánicas secundarias a la hipertensión portal.

Material y métodos: En ratas Wistar macho: pseudo-operadas (SO; $n = 12$) y con HTP por triple ligadura parcial de la vena porta ($n = 12$) hemos cuantificado las células cebadas en el ileon y en los ganglios linfáticos mesentéricos y los niveles séricos de quimasa (Rat Mast Cell Protease-II; RMCP-II) por ELISA. En un segundo grupo de experimentos, Ketotifen, un fármaco estabilizador de células cebadas, fué administrado 24 horas antes de la intervención a ratas SO ($n = 10$) y a ratas con HTP ($n = 12$) y se determinaron las concentraciones séricas de prostanoïdes (PGE_2 , PGI_2 , TxB_2) y leucotrienos (LTC_4 , LTB_4) por RIA, la infiltración por células cebadas en el ileon y en los ganglios linfáticos mesentéricos y la concentración sérica y ganglionar de RMCP-II.

Resultados: En las ratas con HTP a las 48 horas del p.o. los niveles séricos de RMCP-II ($p < 0,05$), PGE_2 ($p < 0,001$) y LTC_4 disminuyen, en tanto que la concentración de RMCP-II aumenta en los ganglios linfáticos mesentéricos. La administración profiláctica de Ketotifen reduce la presión portal ($p < 0,001$), los niveles séricos de PGE_2 ($p < 0,001$) y RMCP-II ($p < 0,001$) en los ganglios linfáticos mesentéricos ($p < 0,001$).

Conclusiones: En la HTP aguda en la rata la traslocación de las células cebadas desde la mucosa intestinal a los ganglios linfáticos mesentéricos representaría un mecanismo de defensa para evitar la activación de una respuesta inflamatoria aguda masiva intestinal. La administración profiláctica de Ketotifen es capaz de reducir los cambios inflamatorios esplánicos secundarios a la hipertensión portal aguda en la rata.

IGF-1 FRENTE A RIFAXIMINA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS Y LIGADURA TOTAL DE LA VENA PORTA

R. Bartoli^a, G. Òdena^a, M. Miquel^a, A. Serafin^b, R. Morillas^a, A. Galan^c, M.A. Gassull^a y R. Planas^a

^aServicios de Gastroenterología y ^bBioquímica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. ^cServicio de medicina y cirugía animal. Universitat Autònoma de Barcelona.

La encefalopatía hepática (EH) en la cirrosis es consecuencia del fracaso hepático y/o la presencia de derivaciones portosistémicas que facilitan el paso de compuestos nitrogenados desde el intestino a la circulación sistémica. Rifaximina (R) es un tratamiento establecido de la EH en la cirrosis humana. Por otra parte, IGF-1 podría ser útil por sus efectos antifibrogénico y anabólico.

Objetivo: Comparar la efectividad de R e IGF-1 en el tratamiento de la EH en un modelo experimental de ratas cirróticas ascíticas con ligadura total de la vena porta (LTP).

Métodos: Se estudiaron un total de 55 ratas SD distribuidas en 6 grupos: A: 10 ratas control; B: 9 ratas control + R (50 mg/Kg día durante 14 días); C: 9 ratas control+IGF-1 (2 µg/Kg s.c./12h, durante 14 días); D: 9 ratas cirróticas con LTP; E: 9 ratas cirróticas con LTP+R; y F: 9 ratas cirróticas con LTP+IGF-1. La cirrosis y ascitis se indujo mediante la administración oral de CCl_4 . A la sexta semana de administración de CCl_4 (o el mismo periodo en las controles) se realizó la LTP y la inducción de cirrosis continuó hasta el

desarrollo de ascitis. A partir de este momento los animales fueron distribuidos al azar para recibir R, IGF-1 o placebo durante 14 días tras lo que se realizó un test de sobrecarga oral de glutamina (SOG). Mediante laparotomía media se obtuvo sangre portal y periférica, hígado, cerebro y contenido ileocecal para evaluar amonio plasmático y cerebral, presencia o no de edema cerebral de bajo grado y cultivo ileocecal.

Resultados: En comparación con las ratas control (grupos A, B y C) las ratas cirróticas con LTP (grupo D) presentaron de forma significativa una mayor concentración de amonio plasmático y cerebral, mayor área bajo la curva (AUC) tras SOG y edema cerebral de bajo grado. La administración de R (grupo E) redujo de forma significativa el sobrecrecimiento bacteriano respecto a los grupos D y F, lo que se asoció a unos valores de amonio plasmático y cerebral, de la AUC tras SOG y de contenido de agua cerebral similares a los observados en los grupos controles (grupos A, B y C). Por el contrario, la administración de IGF-1 (grupo F) no fue capaz de revertir los cambios observados en el grupo D. Se observó astrocitosis Alzheimer tipo II en casi la mitad de los animales con cirrosis y ascitis, independientemente de si recibieron R o IGF-1.

Conclusión: Mientras que la administración de Rifaximina mejora la mayoría de las alteraciones asociadas a la EH en la cirrosis experimental, el tratamiento con IGF-1 no está indicado en esta patología.

LA PRESENCIA DE SIGNOS EXTRAPIRAMIDALES EN PACIENTES CIRRÓTICOS PREDICE LA APARICIÓN DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

L. Compañy, R. Jover, P. Zapater* y M. Pérez-Mateo

Sección de digestivo del Hospital General Universitario de Alicante.

*Servicio de farmacología clínica HGU Alicante.

Introducción: La encefalopatía hepática mínima (EHM) produce un importante impacto en la calidad de vida de los pacientes cirróticos. Algunos de éstos presentan signos extrapiramidales (SE) como consecuencia de la alteración de los ganglios basales, siendo más frecuente su aparición en pacientes con EHM. Se ha publicado que existe una correlación entre la presencia de EHM y de SE, sin embargo hasta la fecha no se ha investigado la influencia de éstos últimos sobre la evolución de los pacientes y sobre el desarrollo de EH.

Objetivos: 1) Estudiar en una cohorte de pacientes cirróticos el valor pronóstico de la EHM y de los SE en el desarrollo de EH y en la supervivencia. 2) Ver la evolución de los pacientes de forma prospectiva.

Pacientes y métodos: Se siguieron de forma prospectiva 46 pacientes con cirrosis hepática, de los cuales 5 se perdieron durante el seguimiento. La media de seguimiento fue de $29,76 \pm 18,02$ meses. Durante el seguimiento fallecieron 20 pacientes. De los 21 que sobrevivieron, 2 fueron trasplantados y uno rechazó la repetición del estudio. A los 18 pacientes restantes se les realizó de nuevo los test neuropsicológicos (Grooved-Pegboard, cubos, conexión numérica parte A, versión oral del Symbol Digit, Stroop test), y se les evaluó la calidad de vida con el SF-36 y el CLDQ. La presencia de SE se evaluó con la escala UPDRS, considerando positivo un valor ≥ 3 . La EHM se definió como la presencia de dos test alterados o un test alterado y un valor patológico de la p300 (realizado en estudio previo). Se recopilaron todas las incidencias evolutivas de los pacientes, como desarrollo de EH, exitus descompensaciones.

Resultados: Ninguno de los factores estudiados predijo mortalidad. La existencia de SE fue el único factor que predijo desarrollo de EH de manera independiente ($p = 0,023$ IC 0,624-0,966). Entre el grupo de pacientes que sobrevivió se observó un empeoramiento global en sus SE, una mejoría en la parte mental del SF-36 ($p = 0,029$), y un empeoramiento en la realización del test de cubos y de conexión numérica ($p = 0,037$ y $0,049$).

Conclusiones: 1) La existencia de signos extrapiramidales predice el desarrollo de EH. 2) Los SE empeoran entre los pacientes que sobreviven. 3) En los pacientes que sobreviven persiste una clara correlación entre la presencia de signos extrapiramidales y el fallo cognitivo, persistiendo una alteración en la calidad de vida.

EXPRESIÓN HEPÁTICA DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN KRUPPEL-LIKE FACTOR 2 (KLF2) Y DE SUS GENES DIANA PROTECTORES DE ENDOTELIO EN LA CIRROSIS

J. Gracia-Sancho¹, H. García-Calderó¹, A. Rodríguez-Vilarrupla¹, J.C. García-Pagán¹, G. García-Cardena² y J. Bosch¹

¹Laboratorio de Hemodinámica Hepática, Hospital Clínic, IDIBAPS, Ciberehd, Barcelona. ²Laboratory for Systems Biology, Center for Excellence in Vascular Biology, Harvard Medical School, Boston.

Antecedentes: El factor de transcripción endotelial KLF2 modula la expresión de múltiples genes "protectores" del endotelio con efectos anti-inflamatorios (elafin, eNOS), anti-trombóticos (trombomodulina) y vasodilatadores (eNOS, CNP). El déficit de KLF2 cambia el fenotipo funcional endotelial, que deviene proinflamatorio, protrombogénico y provasoconstrictor. El principal activador de la expresión de KLF2 es la fuerza biomecánica ejercida por el flujo sanguíneo sobre las células endoteliales, sin éste KLF2 deja de expresarse. El desarrollo de cirrosis se acompaña de importantes alteraciones de la microcirculación hepática que influyen en el medio hemodinámico en el sinusoides hepático y podrían reducir la expresión de KLF2 y del conjunto de sistemas transcripcionales derivados. El presente estudio se diseñó para verificar la hipótesis de que la expresión hepática de KLF2 y en sus programas transcripcionales son modulados en el transcurso de la cirrosis. Para ello, se ha realizado una caracterización molecular y bioquímica de KLF2 y sus genes diana en tejido hepático de ratas controles y cirróticas por CCl₄.

Metodología: En homogenados hepáticos de ratas control ($n = 8$) y de dos grupos de ratas cirróticas (con cirrosis inicial; 6 semanas de tratamiento, $n = 8$ y con cirrosis avanzada; con ascitis, 12-14 semanas de tratamiento, $n = 8$) se determinó: a) Expresión génica y proteica de KLF2, mediante RT-PCR cuantitativa a tiempo real y Western Blot, respectivamente, y b) Expresión génica de trombomodulina y CNP.

Resultados: Los hígados de ratas con cirrosis avanzada presentaron niveles de mRNA de KLF2 superiores a los controles ($2,2 \pm 0,3$ vs $1,0 \pm 0,1$ unidades arbitrarias [UA]; $p < 0,01$), junto con un marcado aumento de la expresión proteica de KLF2 ($5,9 \pm 1,4$ vs $0,8 \pm 0,3$ UA; $p = 0,01$). Esta regulación al alza de KLF2 en los hígados cirróticos se observó ya a las 6 semanas de iniciar la inducción a cirrosis (mRNA: $1,93 \pm 0,3$ vs $1,0 \pm 0,1$ UA; $p < 0,01$) y se acompañó de un aumento en la expresión génica de sus genes diana trombomodulina ($2,2 \pm 0,2$ vs $1,0 \pm 0,1$ UA; $p < 0,01$) y CNP ($3,5 \pm 1,1$ vs $1,0 \pm 0,2$ UA; $p = 0,02$).

Conclusiones: Los resultados del presente estudio muestran que el factor de transcripción endotelial KLF2 se encuentra aumentado ya tempranamente en el hígado cirrótico y que su expresión activa la transcripción de sus genes diana, el agente anticoagulante trombomodulina y el vasodilatador CNP. Estos datos sugieren que un aumento de la expresión de KLF2 podría constituir un nuevo mecanismo de compensación frente a los trastornos vasculares existentes en el hígado cirrótico.

CAMBIOS HEMODINÁMICOS EN EL EJE ESPLENO-PORTAL EN PACIENTES CIRRÓTICOS SOMETIDOS A EMBOLIZACIÓN ESPLÉNICA PARCIAL (EEP)

A. Moreno^a, L. Gil-Grande^b, F. García-Hoz^b, J. Blázquez^c, J.R. Foruny^b, C. Quereda^a, A. López-San Román^b, M. García-González^b, J. Moreno^b, M.J. Pérez-Elías^a, J. Sánchez-Corral^c, C. Rodríguez-Martín^b, M. Rodríguez-Gandía^b, S. Moreno^a y R. Bárcena^b

Servicios de Enfermedades Infecciosas^a, Gastroenterología^b, y Radiología Vascular Intervencionista^c. Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España.

Introducción: La embolización esplénica parcial (EEP) es útil para tratar la trombopenia por hiperesplenismo del paciente cirrótico, especialmente como estrategia previa al uso de terapias con peg-IFN en pacientes con cirrosis por virus B ó C. Nuestro objetivo fue evaluar los cambios hemodinámicos observados en el eje

espleno-portal tras EEP, mediante la realización seriada de eco-grafía-doppler.

Métodos: En nuestro centro se ha realizado EEP en 36 pacientes cirróticos por virus C ó B, con seguimiento rutinario por ecografía-doppler: en las 24 horas pre y post-EEP, día +7, mes +1, y cada 3 meses posteriormente.

Resultados: La mayoría fueron varones (78%), con una media de MELD y edad de 13 ± 3 (9-21) y 44 ± 8 años; 16 eran VIH (44%), y 8 (22%) transplantados hepáticos. El tamaño medio del bazo era 18 ± 3 cm (13-24), y la cifra de plaquetas $40,433 \pm 15,035$ cels/ml. El volumen de infarto esplénico obtenido tras EEP, $88 \pm 7\%$ (70-98). La EEP produjo una disminución significativa en la velocidad media de la vena porta principal (VM-VPP), de 20 ± 8 cm/sg a 12 ± 5 cm/sg ($p < 0,0001$), e inversión del flujo portal y/o esplénico en 12 casos (33%). La VM-VPP tras EEP fue significativamente más lenta en pacientes con inversión del flujo respecto a los que mantuvieron flujo hepatopeto (10cm/sg vs 13cm/sg, $p = 0,049$). Globalmente, 13 sujetos (36%) desarrollaron trombosis venosa portal y/o esplénica (TPE). En el análisis univariable, la TPE se asoció a un mejor MELD ($p = 0,002$), a una menor VM-VPP antes ($p = 0,025$) y después ($p = 0,002$) de la EEP, y a la inversión del flujo portal ($p = 0,05$). La introducción rutinaria de profilaxis con heparina de bajo peso molecular (HBPM) a dosis de 1mg/kg/d vía subcutánea en los 3 meses tras EEP en los últimos 22 pacientes redujo la incidencia de TPE (de 50% a 27%, $p = 0,16$). Además, la profilaxis anticoagulante redujo el impacto negativo de la disminución previa en la VM-VPP ($p = 0,26$) o de la inversión del flujo esplénico y/o portal ($p = 0,33$), pero no el efecto protrombótico de un mejor MELD ($p = 0,017$) o el de la disminución de la VM-VPP tras la EEP ($p = 0,027$). En 10/13 (77%) pacientes con TPE se utilizó HBPM se a dosis terapéuticas (1mg/kg/2 veces/día), con evidencia de recanalización en todos, y sin complicaciones hemorrágicas.

Conclusiones: En pacientes cirróticos, una EEP extensa produce cambios significativos en la hemodinámica del eje espleno-portal, con un mayor riesgo de trombosis venosa esplénica y/o portal, especialmente en pacientes con enfermedad más leve. Aunque la profilaxis anticoagulante con HBPM redujo la incidencia de TPE y disminuyó el efecto deletéreo de algunos de los cambios hemodinámicos observados, aquellos pacientes con mejor MELD pre-EEP y/o disminución significativa en la VM-VPP tras EEP requieren vigilancia estrecha. En caso de trombosis, el uso de HBPM a dosis terapéuticas fue seguro, con evidencia de recanalización en todos y ausencia de complicaciones hemorrágicas.

LA COMBINACIÓN DE TRATAMIENTO ENDOSCÓPICO Y FARMACOLÓGICO ES MÁS EFICAZ QUE CADA UNO POR SEPARADO PARA PREVENIR EL RESANGRADO DIGESTIVO Y POR VARICES ESOFÁGICAS EN LA CIRROSIS: METAANÁLISIS

R. González^{a,c}, J. Zamora^a, J. Gómez-Camarero^{b,c}, L.M. Molinero^d, R. Bañares^{b,c} y A. Albillos^{a,c}

^aHospital Ramón y Cajal. Univ. Alcalá. Madrid. ^bHospital Gregorio Marañón. Univ Complutense. Madrid. ^cCiberehd. ^dAlce Ingeniería, Madrid.

Conferencias de consenso (JHepatol 2005;43:167) y guías clínicas (Hepatology 2007;46:922) discrepan sobre el tratamiento de elección para prevenir el resangrado variceal en la cirrosis: terapia endoscópica, beta-bloqueantes o ambos. El objetivo de este metaanálisis fue establecer si la combinación de terapia endoscópica (esclerosis o ligadura) y beta-bloqueantes es más eficaz que cada tratamiento por separado para reducir el resangrado y la mortalidad. La búsqueda bibliográfica finalizó en mayo-2007. Seleccionamos ensayos que comparaban tratamiento combinado (terapia endoscópica+beta-bloqueantes) frente a terapia endoscópica (metaanálisis 1) o farmacológica (beta-bloqueantes) (metaanálisis 2). La heterogeneidad se exploró por metarregresión y análisis estratificado. En metaanálisis 1 (17 ensayos, 1133 pacientes, 14 ensayos con esclerosis como terapia endoscópica), el tratamiento combinado redujo el

riesgo (odds ratio, OR) de resangrado digestivo (OR, 0,50; IC95%, 0,34-0,73, heterogeneidad moderada) y muerte (OR, 0,70; IC, 0,51-0,98, sin heterogeneidad). Se necesitaron tratar (NNT) 12 pacientes con tratamiento combinado en vez de terapia endoscópica sola para prevenir un episodio de resangrado. El tratamiento combinado también redujo el resangrado por varices (OR, 0,56; IC 0,33-0,93) y la recurrencia de las varices (OR, 0,43; IC 0,30-0,62). Ni la metarregresión ni el análisis estratificado identificaron covariable alguna asociada al riesgo de resangrado. El beneficio del tratamiento combinado fue independiente del tipo de terapia endoscópica. Se retiró por efectos adversos un mayor número de pacientes del brazo de tratamiento combinado (diferencia de riesgo 5%, IC 1,6-8,5). En metaanálisis 2 (5 ensayos, 556 pacientes), el tratamiento combinado fue más eficaz para prevenir el resangrado digestivo (OR, 0,52; IC, 0,37-0,74, sin heterogeneidad) y el variceal, si bien las diferencias en mortalidad no alcanzaron significación (OR, 0,70; IC, 0,46-1,06). El NNT del tratamiento combinado frente al farmacológico para prevenir un episodio de resangrado fue de 8.

Conclusión: La combinación de tratamiento endoscópico y farmacológico es más efectiva que cada una de estas terapias por separado para reducir el resangrado digestivo y por varices. Este beneficio se traduce en una reducción de la mortalidad cuando el tratamiento combinado se compara con el endoscópico.

EL ANÁLOGO DE LA SOMATOSTATINA OCTREÓTIDO INHIBE LA ANGIOGÉNESIS Y LA EXPRESIÓN DE VEGF EN ETAPAS TEMPRANAS, PERO NO EN LAS MÁS AVANZADAS, DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL EN RATAS

M. Mejías, E. García-Pras, J. Bosch y M. Fernández

Laboratorio de Hemodinámica Hepática, Unidad de Hepatología, IDIBAPS, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Hospital Clínic, Universidad de Barcelona.

Introducción y objetivos: La angiogénesis es un importante determinante de la patofisiología de la hipertensión portal, ya que contribuye a la formación de los vasos colaterales porto-sistémicos y al establecimiento de la circulación esplácnica hiperdinámica que se asocian a este síndrome. La somatostatina y sus análogos, como el octreotido, son potentes inhibidores de la angiogénesis experimental. El objetivo de este estudio fue determinar si el octreotido posee efectos angiointerceptores en ratas con hipertensión portal.

Métodos: Ratas con ligadura parcial de la vena porta fueron tratadas con octreotido o su vehículo durante 4 o 7 días. La neovascularización esplácnica (expresión de CD31) y la expresión de VEGF se determinaron mediante western blotting. La expresión del receptor de somatostatina tipo 2 (SSTR2), mediador de los efectos antiangiogénicos del octreotido, fue también analizada, así como la formación de colaterales porto-sistémicas (microesferas radiactivas) y los parámetros hemodinámicos.

Resultados: El tratamiento con octreotido durante 4 días redujo significativamente la presión portal un 15%, la neovascularización esplácnica un 38% y la expresión de VEGF un 63%, mientras que la colateralización porto-sistémica y el flujo esplácnico no fueron modificados. Tras una semana de tratamiento, octreotido disminuyó la presión portal en un 20%, pero no causó efectos antiangiogénicos. Este fenómeno podría relacionarse con el hallazgo de que la expresión del receptor SSTR2 disminuyó progresivamente (hasta un 78%) durante la evolución de la hipertensión portal.

Conclusión: Este estudio aporta la primera prueba experimental que sugiere que el octreotido podría ser una terapia antiangiogénica efectiva en las primeras fases de la hipertensión portal, pero no en etapas avanzadas de este síndrome, probablemente a causa de la disminución de la expresión de SSTR2 durante la progresión de la hipertensión portal en ratas. Estos hallazgos ponen de manifiesto nuevos mecanismos de acción del octreotido en la hipertensión portal.

ORIGEN HEPÁTICO DE LA ACTIVACIÓN TEMPRANA DEL SISTEMA INMUNE EN RATAS CON CIRROSIS COMPENSADA

M. Úbeda^a, A. Albillos^{a,b,d}, L. Muñoz^{a,d}, M. Nieto^{a,d}, M. Lario^{a,d}, E. Reyes^{a,d}, J. Monserrat^{a,d}, L. Lledó^a, E. Sanz^{a,d}, A. de la Hera^{a,d} y M. Álvarez-Mon^{a,c,d}

^aUniversidad de Alcalá. ^bH. Ramón y Cajal. ^cH. Príncipe Asturias. ^dCiberehd.

La traslocación bacteriana intestinal es un mecanismo de activación del sistema inmune en la cirrosis con ascitis. Las bacterias entéricas alcanzan los ganglios mesentéricos y activan las células inmunitarias, cuya recirculación extiende la inflamación a la circulación sistémica (Hepatology 2005;42:411). Se desconoce si existe activación sistémica del sistema inmune en la cirrosis compensada, en la que la traslocación bacteriana es poco frecuente, así como la posible contribución en este sentido del hígado, órgano diana de inflamación en la cirrosis.

Objetivo: 1) Estudiar en ratas con cirrosis compensada (sin ascitis) el estado de activación del sistema inmune de sangre periférica, así como el del hígado, ganglios linfáticos del hígado (GLH) y mesenterio (GLM), y 2) la contribución de estos territorios a la inflamación sistémica, si es que se produce.

Método I: Investigamos por citometría de flujo la activación de las células inmunitarias de estos territorios en ratas con cirrosis compensada (CLC oral, 12 sem) y controles (media \pm DS, cirrosis vs control). La inflamación sistémica se encuentra presente en la cirrosis compensada, como indica la expansión ($p < 0,05$) en sangre de monocitos inflamatorios ($\times 1,9$ del valor normal), células Th recientemente activadas (Th-ac) ($\times 5,9$) y Th memoria efectora no terminada (Th-m) ($\times 1,7$). El hígado cirrótico muestra incremento ($p < 0,05$) de monocitos infiltrantes ($\times 1,4$) y células Th-ac ($\times 4,8$), junto con disminución de células dendríticas ($\times 0,6$). En el GLH existe aumento de Th-act ($2,4 \times 10^4 \pm 6 \times 10^3$ vs $9,4 \times 10^3 \pm 2 \times 10^2$ cel/mg, $p < 0,05$), Th-m ($9,3 \times 10^4 \pm 8 \times 10^3$ vs $1,5 \times 10^4 \pm 2 \times 10^2$ cel/mg, $p < 0,05$) y monocitos (2294 ± 898 vs 883 ± 594 cel/mg, $p < 0,05$). Estas mismas poblaciones se encuentran aumentadas en el GLM de ratas con cirrosis. La activación de células Th ocurre localmente en GLH y GLM, como denota el aumento en estos compartimentos de células Th CD62L. En ratas cirróticas, la inflamación sistémica, expresada por el número de Th-m circulantes, se correlaciona ($r = 0,74$, $p < 0,05$) con la del GLH, pero no con la del GLM.

Método II: Estudiamos la contribución de las bacterias entéricas a la inflamación sistémica de ratas cirróticas, administrando antibióticos no absorbibles o placebo. Esta maniobra normalizó el número de Th-m, monocitos inflamatorios y dendríticas de los GLM, sin modificar las células inmunitarias de sangre periférica y/o del GLH.

Conclusión: La activación sistémica del sistema inmune es un evento temprano en la cirrosis compensada. Dicha activación se origina en los ganglios de drenaje del hígado, y, a diferencia de lo que ocurre en la cirrosis con ascitis, es independiente de la traslocación bacteriana intestinal.

FACTORES PREDICTIVOS DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON CIRROSIS E HIPONATREMIA. IMPORTANCIA DEL MELD Y DE LA EVOLUCIÓN DE LA HIPONATREMIA

M.E. Baccaro^{1,2,3}, M. Guevara^{1,2,3}, E. Solá Verges¹, L. Moreira¹, M.N. Pepín¹, M. Martín-Llahi^{1,2,3}, A. Nazar^{1,2}, M. Navasa^{1,2,3}, V. Arroyo^{1,2,3} y P. Ginès^{1,2,3}

¹Unidad de Hepatología, Hospital Clínic de Barcelona. ²IDIBAPS.

³CIBERehd. Ciber de Enfermedades Hepáticas y Digestivas.

Estudios recientes han puesto de manifiesto el valor pronóstico de la concentración sérica de sodio en pacientes con cirrosis hepática y se ha propuesto su inclusión en la fórmula de MELD para la clasificación de la gravedad de los pacientes en lista de espera de trasplante hepático. No obstante, existe muy poca información sobre la historia natural y factores pronósticos en los pacientes con cirrosis e hiponatremia así como la evolución de la hiponatremia en estos pacientes. El objetivo del presente estudio fue evaluar

los factores pronósticos de los pacientes con hiponatremia así como la evolución de la concentración sérica de sodio en estos pacientes. Se realizó un estudio prospectivo que incluyó 90 pacientes consecutivos con hiponatremia hipervolémica (dilucional) hospitalizados en nuestro Servicio durante un período de 18 meses. En todos los pacientes se determinó las pruebas estándar de función hepática y renal y se realizó un seguimiento de 3 meses. La concentración sérica de sodio se determinó periódicamente durante el seguimiento. La hiponatremia se definió como una concentración sérica de sodio < 135 mEq/L y se consideró transitoria cuando el sodio sérico aumentó al menos 5 mEq/L en dos determinaciones consecutivas con un valor final ≥ 135 mEq/L dentro de un período de 30 días de la inclusión en el estudio. En los demás casos se consideró persistente. El único tratamiento específico realizado para la hiponatremia fue la restricción de la ingesta de líquido. De entre los diversos factores obtenidos en el momento de la inclusión, sólo la presencia de encefalopatía hepática la puntuación de Child-Pugh y de MELD en el momento de la inclusión y la evolución de la hiponatremia (transitoria vs persistente) tuvieron valor pronóstico de supervivencia en el análisis univariado. En el análisis multivariado, sólo la puntuación de MELD y la evolución de la hiponatremia tuvieron valor pronóstico independiente. La mortalidad a los 3 meses de los pacientes con hiponatremia persistente fue significativamente superior a la de los pacientes con hiponatremia transitoria (40% vs 14%, respectivamente, $p < 0,01$). La presencia de hiponatremia transitoria se asoció a una mayor frecuencia de infecciones y/o hemorragia digestiva en el momento de la inclusión, en comparación con los pacientes con hiponatremia persistente (86% vs 51%, $p < 0,001$). La mortalidad a los 3 meses en los pacientes con MELD > 17 fue superior a la de los pacientes con MELD ≤ 17 (41% vs 17%, respectivamente, $p = 0,021$). En conclusión, de entre la población de pacientes con cirrosis e hiponatremia, los pacientes con MELD bajo o hiponatremia transitoria presentan un buen pronóstico a corto plazo. Estos resultados deberían ser tenidos en cuenta en la evaluación del pronóstico de los pacientes con cirrosis, en especial para el trasplante hepático, así como cuando se plantee el tratamiento farmacológico de la hiponatremia

HISTORIA NATURAL DE LA CIRROSIS COMPENSADA EN PACIENTES COINFECTADOS POR VHC Y VIH

J.A. García-García^a, A. Rivero^b, M. González-Serrano^c, D. Merino^d, M.J. Ríos-Villegas^e, M. Aguilar-Guisado^f, J.A. Girón-González^g, A. Camacho^b, J. Ruiz-Morales^c, E. Fernández^d, J. Macías^a, J.A. Mira^a, J. del Valle^a, J.M. Gómez-Mateos^a y J.A. Pineda^a

^aUnidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Valme. ^bUnidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba. ^cUnidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga. ^dServicio de Medicina Interna. Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva. ^eUnidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla. ^fUnidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. ^gUnidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Puerta del Mar, Cádiz.

Introducción: La cirrosis compensada secundaria a la infección por el VHC es un hallazgo frecuente entre los pacientes infectados por el VIH en nuestra área, donde la coinfección VIH/VHC es un problema de primera magnitud. Existe poca información sobre este estadio de la enfermedad hepática en los pacientes coinfectados. El objetivo de este estudio fue conocer la incidencia de descompensaciones hepáticas, la mortalidad y las variables asociadas a estos eventos en los pacientes infectados con VIH con cirrosis compensada por el VHC.

Pacientes y métodos: Ciento cincuenta y cuatro pacientes coinfectados por VIH y VHC en los que se realizó un nuevo diagnóstico de cirrosis compensada con estadio A en la clasificación de Child-Pugh-Turcotte (CPT) en siete hospitales andaluces entre Enero de

1996 y Septiembre de 2006 fueron incluidos en este estudio retrospectivo. Se evaluó el tiempo desde el diagnóstico al desarrollo de la primera descompensación y la muerte.

Resultados: La mediana (Q1-Q3) de tiempo de seguimiento fue de 29.1 (14.9-51.3) meses. Treinta y seis (23.4%) pacientes desarrollaron una descompensación. La densidad de incidencia de aparición de descompensación fue de 8.88 por cada cien personas-año. Las probabilidades de descompensación al 3º y 5º años fueron de 27 y 33%, respectivamente. La ascitis fue la principal causa de primera descompensación, seguida de la encefalopatía hepática (EH) y la hemorragia digestiva secundaria a hipertensión portal (50%, 17% y 17%, respectivamente). Los factores independientemente asociados [riesgo relativo (IC 95%)] con la aparición de descompensación hepática fueron el no haber realizado tratamiento frente al VHC durante el seguimiento [3,71 (1,25-10,99)], un recuento basal de células CD4 por debajo de 300/mm³ [2,12 (1,06-4,25)], un valor de CPT de 6 frente a 5 [4,38 (2,03-9,43)] y un diagnóstico de cirrosis basado en hallazgos clínicos [3,81 (1,8-8,05)]. Quince (9,7%) pacientes fallecieron durante el seguimiento. Once (73%) individuos murieron debido a causas hepáticas. La EH fue la causa de muerte de 9 (81%) sujetos. La tasa de mortalidad secundaria a hepatopatía fue de 2,44 muertes por cada cien personas-año. Las probabilidades de supervivencia a los 3 y 5 años fueron de 91% y 82%, respectivamente. La EH como primera descompensación [29,75 (6,25-141,51)] y un valor más elevado del CPT [5,59 (1,28-24,42)] fueron las principales variables que se asociaron a mortalidad.

Conclusiones: Los eventos clínicos secundarios a la hepatopatía en pacientes con cirrosis compensada con CPT A son más frecuentes que las cifras previamente publicadas en pacientes mono infectados por VHC. La hepatopatía es la principal causa de muerte en los pacientes coinfectados. El tener un recuento más bajo de células CD4, la ausencia de tratamiento frente al VHC y la presencia de un CPT más elevado son los factores que más se asocian a la aparición de eventos clínicos relacionados con la hepatopatía.

EFFECTOS DE LA CIRROSIS HEPÁTICA SOBRE LA CAPACIDAD DE CONDUCCIÓN DE VEHÍCULOS

C. Montoliu^{ab}, M.A. Serra^b, P. Valero^c, A. Urios^d, M. Sanchez^c, I. Pareja^c, J.A. del Olmo^b, J.M. Rodrigo^b, J. Sanmartín^c y V. Felipo^d

^aFundación Investigación Hospital Clínico de Valencia. ^bServicio de Hepatología, Hospital Clínico Universitario de Valencia. ^cInstituto de Tráfico y Seguridad Vial de la Universidad de Valencia. ^dLaboratorio de Neurobiología, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia.

Los pacientes con cirrosis hepática pueden presentar encefalopatía hepática (EH). La EH puede presentar diferentes grados y un amplio rango de manifestaciones clínicas, incluyendo alteraciones de los ritmos de sueño, coordinación motora, disminución de la función intelectual, déficits de atención, etc.

Aproximadamente un 30% de los pacientes cirróticos sin síntomas clínicos de encefalopatía presentan encefalopatía hepática mínima (EHM), con alteraciones de la función cognitiva y motora, que se puede detectar mediante la realización de tests psicométricos o neurofisiológicos.

Pacientes con cirrosis hepática y EHM que presentan alteraciones en la atención, la percepción visuo-espacial, la concentración y/o la coordinación de motora, podrían tener disminuida su capacidad para conducir vehículos, aumentando el riesgo de causar accidentes de tráfico.

El objetivo de este estudio es estudiar la capacidad de conducción en pacientes con cirrosis hepática, con o sin EHM mediante pruebas psicotécnicas específicas (Driver Tests), y utilizando un simulador de conducción (EVICA). Determinamos la EHM con una batería de tests psicométricos (PHES), recomendados como "gold standard" en el diagnóstico de la EHM así como la frecuencia crítica de parpadeo (CFF) y estudiamos si existe una correlación entre las alteraciones en dichos parámetros y entre la presencia de EHM y el deterioro de la capacidad de conducción.

Estudiamos también si hay una correlación entre parámetros bioquímicos y fisiológicos en sangre o de combinaciones de los mismos con las alteraciones en las capacidades de conducir o realizar las pruebas de psicométricos.

Veintisiete pacientes con la cirrosis hepática y diecisiete controles han sido analizados hasta ahora. La activación de la guanilato ciclasa por NO en linfocitos y el GMP cíclico en plasma son más altos y la frecuencia crítica de parpadeo más bajos en pacientes con EHM que sin EHM. El amonio, y los metabolitos de óxido nítrico son más altos en pacientes que en controles, pero no son diferentes en pacientes con o sin EHM. Los pacientes cirróticos muestran alteraciones en la capacidad para realizar pruebas psicotécnicas de conducción (Driver Tests) y en el simulador de conducción (EVICA). Los datos obtenidos hasta ahora indican que el deterioro es mayor en pacientes con EHM.

PAPEL DEL IGF-1 EN LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

M. Jover^a, I. Camacho^b, D. Díaz^a, M. García-Fernández^c, A. Madrazo^a, J.E. Puche^c, I. Castilla-Cortazar^c, Eulalia Gil^b, L. Grande^a, J.D. Bautista^a y M. Romero-Gómez^a

^aUnidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas y CIBEREHD. Hospital Universitario de Valme, Sevilla; ^bServicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme, Sevilla. ^cDepartamento de Fisiología Médica. Facultad de Medicina. Universidad de Málaga. Málaga.

Introducción: El factor semejante a la insulina tipo I (IGF-1) está descendido en en modelos animales de disfunción hepática crónica y en individuos con cirrosis hepática (Caufray y col., *J Endocrinol Invest*; 14:317-321, 1991).

Objetivo: Estudiar los niveles de IGF-1 y su relación con el metabolismo del amonio tanto en ratas sometidas a derivación portocava (DPC) como en pacientes con cirrosis hepática.

Pacientes, animales y métodos: Incluimos 16 ratas Wistar macho (250-300 g), 8 animales controles de operación o ratas sham y 8 ratas DPC. Todos los animales se sacrificaron a las 4 semanas de la intervención. Estudiamos la diferencia de peso a lo largo del estudio, el índice de Fisher (como cociente de aminoácidos ramificados y aminoácidos aromáticos, determinados por el método AccQ de Waters mediante HPLC) y los niveles de amonio (método enzimático GDH, COBAS Integra, ROCHE), óxido nítrico (ELISA, kit R&D System, Minneapolis, Mi) en plasma. Medimos los niveles de IGF-1 mediante RIA en suero (Diagnostic, USA). Incluimos 14 pacientes con cirrosis hepática compensada. Estudiamos la función hepática (MELD) y la presencia de encefalopatía hepática mínima mediante test psicométricos (PHES) y medición de la frecuencia crítica de parpadeo (HEPATONORM®). Realizamos la prueba de la sobrecarga oral de glutamina (SOG) y medimos la producción intestinal de amonio. Medimos la insulínemia (ECLIA), resistencia a la insulina mediante HOMA y glucagonemia mediante RIA.

Resultados: Los niveles de IGF-1 estaban descendidos a la mitad en ratas con DPC (616,38 ± 327,38*) µg/dl frente a ratas sham (120,31 ± 60,77) µg/dl. Se observó una correlación de los niveles de IGF-1 con la hiperamonemia (r = -0,55; p < 0,05; n = 14), con el coeficiente de Fisher (r = 0,59; p < 0,05; n = 13) y con la diferencia de peso de los animales (r = 0,61; p < 0,05; n = 14). En cirróticos, los niveles de IGF-1 correlacionaron negativamente con la producción intestinal de amonio (área bajo la curva de la prueba de la sobrecarga oral de glutamina) (r = -0,71; p < 0,004; n = 14), la concentración de glucagón (r = -0,56; p < 0,05; n = 14) y la resistencia a la insulina (r = -0,48; p = 0,09).

Conclusiones: Tanto en pacientes cirróticos como en el modelo de ratas sometidas a derivación portocava se aprecia un déficit de IGF-1 estrechamente relacionado con la alteración del metabolismo del amonio, el glucagón y la resistencia a la insulina. Estos resultados avalan el papel del IGF-1 en la patogenia de la encefalopatía hepática y un tratamiento sustitutivo podría ser útil en el manejo de esta complicación.

Agradecimientos: PI040384 y CIBER CB06/04/0047 del ISCIII.

EL GRADO DE HIPERTENSIÓN PORTAL NO AFECTA LOS RECuentOS DE LINFOCITOS T CD4+ EN PACIENTES CON COINFECCIÓN VIH/VHC

J. Gómez, O. Lo Iacono, D. Rincón, A. Hernando, M.V. Catalina, G. Clemente, J. Berenguer, P. Miralles y R. Bañares
CIBEREHD ISCIII. Unidad de hepatología y Unidad de enfermedades infecciosas/VIH. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Antecedentes y objetivos: En pacientes con cirrosis y manifestaciones clínicas de hipertensión portal (HTP) se han encontrado recuentos bajos de linfocitos T CD4+ en ausencia de infección por el VIH. Este hallazgo podría tener relevancia en la evaluación de pacientes con infección por el VIH y enfermedad hepática avanzada. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del grado de HTP en los recuentos de células T CD4+ en pacientes coinfectados por VIH/VHC utilizando el gradiente de presión venosa hepática (GPVH) como gold standard para la evaluación de la HTP.

Métodos: Se revisaron las historias clínicas y bases de datos de todos los pacientes con coinfección VIH/VHC a los que se les realizó un estudio hemodinámico hepático con medida del GPVH en nuestro centro entre 2002 y 2005.

Resultados: En total se estudiaron 69 pacientes VIH/VHC+ (20% HBsAg+, 39% consumían alcohol). Cincuenta y siete (83%) pacientes estaban recibiendo tratamiento antiretroviral y 44 (64%) tenían carga viral < 50 copias/ml. En 48 pacientes (69%) había datos clínicos y/o histológicos de cirrosis. Se encontró HTP significativa (GPVH > 10 mmHg) en 51 (74%) pacientes. No hubo diferencias en el porcentaje de cirróticos, Child, MELD o el GPVH medio entre las distintas categorías del CDC (A-B vs C). El recuento medio de CD4+ fue significativamente mayor en los pacientes de las categorías A-B que en los de la C y en pacientes con carga viral < 50 copias/ml que en el resto. No se encontró correlación entre el GPVH y el recuento absoluto de CD4+ ($r = -.08$; $p = 0,5$) o el porcentaje de CD4 ($r = .08$; $p = 0,5$). Por último se desarrollaron 3 modelos de regresión logística ajustados por las categorías del CDC y por la carga viral, que tampoco demostraron asociación entre el GPVH y 3 estratos diferentes de CD4+ con relevancia clínica: < 350/mm³, < 200/mm³, y < 100/mm³.

Conclusión: El recuento de CD4+ en pacientes con infección por VIH y enfermedad hepática avanzada no está influido por el grado de HTP, por lo que sigue siendo una herramienta válida en la valoración del estado inmunológico de esta población de pacientes.

ESTUDIO PROTEÓMICO CUANTITATIVO EN CEREBRO DE RATAS SOMETIDAS A DERIVACIÓN PORTO-CAVA

M. Jover^a, P. Carbonero^d, R. Rodrigo^b, O. Cauli^b, M. M. Díaz^a, I. Camacho^c, JD. Bautista^{a,d}, V. Felipo^b y M. Romero-Gómez^a

¹Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas y CIBEREHD. Hospital Universitario de Valme, Sevilla; ²Laboratorio de neurobiología. CIPF. Valencia. ³Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. ⁴Departamento de Bioquímica, Bromatol., Toxicol. Y M.L. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla.

Objetivos: Detectar la presencia de proteínas en mitocondrias de astrocitos de cerebro de ratas sometidas a derivación porto-cava en comparación con ratas controles para identificar nuevas dianas diagnósticas o terapéuticas.

Materiales y métodos: Incluimos 8 ratas sometidas a una anastomosis porto-cava (DPC) y 8 ratas sometidas a operación simulada. Tras el aislamiento del cerebro se procedió al estudio proteómico cuantitativo en ratas DPC y en ratas sham. Las proteínas se separaron e identificaron mediante electroforesis 2D y análisis densitométrico se eligieron aquellas proteínas con diferencia de expresión y se identificaron mediante tecnología nLC- MS/MS.

Resultados: En la tabla 1 se recogen las principales proteínas cuya expresión está modificada en ratas DPC respecto a ratas control y el ratio medio que expresa la proporción cuantitativa de la proteína en DPC y sham. Aquellas proteínas con un ratio mayor que 1 son pro-

teínas con menor expresión en ratas DPC que en los controles y aquellas con ratio inferior a 1 son proteínas sobreexpresadas en ratas DPC.

Proteína	Implicación	Coefficiente de expresión
Subunidad mitocondrial de la Flavoproteína a de transferencia de electrones	Fosforilación Oxidativa	+2,59
Peroxiredoxina 6	Balance Rédox	-2,56
Proteína ácida fibrilar glial	Mantenimiento del citoesqueleto	-1,96
Drebrina	Plasticidad sináptica	-6,25
Proteína 2 del canal anión selectiva dependiente de voltaje	Homeostasis del Calcio	+2,62
Calmodulina	Homeostasis del Calcio	-3,70
Proteína semejante a visinina-1	Neurotransmisión	-3,70
Proteína de choque térmico 71 KDa	Proteínas Chaperonas	-4,35
Proteína P2 ribosomal ácida 60S	PTM	-3,23
Apolipoproteína E (precursor)	Síntesis Lipídica	-2,72

Conclusiones: La encefalopatía hepática se caracteriza por la alteración en la expresión de numerosas proteínas. Hemos detectado sobreexpresión de proteínas oxidantes, avalando la importancia de la oxidación proteica en la encefalopatía, así también, está alterada la expresión de proteínas del citoesqueleto implicadas en el desarrollo de edema cerebral de bajo grado. Por último, proteínas moduladoras del metabolismo glucídico, lipídico y del calcio, moduladoras de la neurotransmisión. El estudio proteómico permite definir nuevas dianas para el manejo de la encefalopatía hepática.

Financiado por el Ministerio de Salud PI040384, CIBEREHD y la Junta de Andalucía Proyecto de excelencia: P06-CTS-01887.

INCREMENTO DEL AGUA CEREBRAL EN LA VÍA CORTICO-ESPINAL EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA

L. Chavarria^{a,b}, B. Mínguez^{a,b}, R. García^{a,b}, X. Aymerich^c, J. Alonso^{b,c}, A. Rovira^c y J. Córdoba^{a,b}

^aServicio de Hepatología, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona. ^bCIBEREHD. ^cUnidad de Resonancia Magnética, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.

Antecedentes: En pacientes con cirrosis hepática se ha detectado alteraciones en la señal T2 de resonancia magnética a lo largo de la vía cortico-espinal, similares a las presentes en la esclerosis lateral amiotrófica. Estas alteraciones, a diferencia de la ELA, son reversibles con el trasplante y se acompañan de disfunción neuronal, un trastorno que ha sido reproducido en modelos experimentales. Se ha propuesto que corresponden a edema cerebral, predominante en esta vía, que está localizado principalmente en astrocitos y causa de forma secundaria disfunción neuronal.

Objetivos: Estudiar el comportamiento del agua cerebral en pacientes con cirrosis hepática mediante resonancia magnética, aplicando el análisis del tensor de difusión. Se emplearon unas secuencias especialmente diseñadas para incrementar la sensibilidad para detectar cambios en la cantidad de agua cerebral, segmentada por diferentes regiones cerebrales.

Sujetos: 44 pacientes (edad 56 ± 9) afectados de cirrosis hepática (Child A: 10, Child B: 25, Child C: 9) de diferentes etiologías (VHC: 24, alcohol: 11, otras:9) y 18 personas sanas (edad 51 ± 8).

Métodos: Las imágenes de difusión se adquirieron mediante una secuencia eco planar de difusión que aplicó gradientes en 6 direcciones no colineales, seleccionándose 11 valores de b entre 0 y 7500 s/mm², y realizándose 10 adquisiciones para cada valor de b y gradiente. El análisis biexponencial de la difusión se centró en la valoración en sustancia blanca parietal (SBP) y en la vía corticoespinal (VCE) de difusividad media (DM), fracción anisotrópica (FA), fracción absoluta (F) y fracción relativa (FR) para los componentes de difusión rápida y lenta.

Resultados: El componente de difusión rápida en los pacientes mostró una MD más elevada (VCE $p < 0,001$; SBP $p = 0,011$) y una FA menor (VCE $p = 0,006$; SBP $p = 0,010$) que en el grupo control. El componente de difusión lenta del grupo de pacientes mostró una

DM más elevada únicamente en la VCE ($p < 0,001$). No se observaron cambios en los valores de FR mientras que los valores de F de los dos componentes fueron más elevados en el grupo de pacientes (VCE $p < 0,001$; SBP $p < 0,003$).

Conclusiones: Las alteraciones de la difusión son compatibles con la existencia de edema cerebral difuso en la sustancia blanca de pacientes con cirrosis hepática. Los cambios predominantes del componente de difusión lenta en la vía cortico-espinal demuestra que existe una mayor afectación de esta vía. El desarrollo predominante de edema en la vía cortico-espinal, que es especialmente sensible a las lesiones por déficit energético, apoyaría las hipótesis que involucran este mecanismo en el desarrollo de encefalopatía hepática.

FUNCIÓN COGNITIVA DESPUÉS DE UN EPISODIO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

I. Les, J. Córdoba, G. Cárdenas, M. Flavià, R. Esteban y J. Guardia

Servicio de Hepatología. Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: Se desconoce la evolución de la función cognitiva después de un episodio de encefalopatía hepática (EH). Un mejor conocimiento de los factores que se asocian con la EH mínima y con la recidiva de la EH episódica facilitaría el desarrollo de nuevos tratamientos.

Objetivos: Investigar las características de la función cognitiva en pacientes con cirrosis hepática que han estado hospitalizados recientemente (dos meses previos) por un episodio de EH y analizar los factores relacionados con la EH mínima y su evolución posterior.

Material y métodos: Se determinó el promedio de los valores T (comparación con población general) de tres pruebas neuropsicológicas (test de símbolos y dígitos, test de conexión numérica A y test con clavijas y ranuras) en 98 pacientes (VHC = 39, alcohol = 32, VHC + alcohol = 16, otros = 11) con insuficiencia hepática avanzada (MELD = 16 ± 4.4) en situación basal, y se repitió en 72 pacientes a las 8 semanas. Se consideró déficit cognitivo leve para un índice promedio = 30-40, moderado = 20-30 y grave < 20. Se recogieron datos epidemiológicos, clínicos, analíticos, terapéuticos y antropométricos. Se realizó un análisis univariado y multivariado de aquellos factores asociados con la alteración cognitiva y con la recidiva de la EH durante los 12 meses posteriores al estudio basal.

Resultados: Se detectó deterioro cognitivo en 75 pacientes (leve = 40, moderado = 32, grave = 3), que se mantuvo estable en las 8 semanas de seguimiento (promedio basal = 33.1 ± 7.8 , 8 semanas = 33.6 ± 9.3 ; $R = 0,81$ entre basal y 8 semanas). De las diversas variables, la única que se asoció con la función cognitiva en el análisis uni y multivariado fue la fuerza muscular del brazo por dinamometría basalmente ($R = 0,26$, $p = 0,01$) y a las 8 semanas ($R = 0,25$, $p = 0,03$). Durante la evolución, 40 pacientes presentaron un episodio de EH. La recidiva de la EH se asoció en el análisis univariado con la hemoglobina, la albúmina y el tiempo de Quick, pero en el multivariado sólo con la hemoglobina.

Conclusiones: En pacientes con cirrosis hepática avanzada que han presentado un episodio de encefalopatía hepática, son frecuentes la encefalopatía hepática mínima y la recidiva de la encefalopatía hepática episódica. La prevención de estas complicaciones podría pasar por mejorar la fuerza muscular y la anemia.

TERLIPRESINA Y ALBÚMINA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON SÍNDROME HEPATORRENAL TIPO 1 CON Y SIN INFECCIÓN ACTIVA

M. Serrano-Romero³, J.M. Pascasio¹, J.M. Sousa¹, A. Cayuela², M.T. Ferrer¹, E. Gómez-Navarro³, J.L. Prieto³, M. Sayago¹ y M. Cabanillas¹

¹Servicio de Digestivo H.U. Virgen del Rocío-Sevilla, ²Documentación y Estadística- H.U. Virgen del Rocío-Sevilla y ³Unidad de Digestivo H. Punta de Europa-Algeciras (Cádiz).

Objetivos: Analizar los resultados del tratamiento(TTO) con terlipresina (TLP) y albúmina (ALB) en una cohorte de pacientes con cirrosis e insuficiencia renal (IR) con criterios de síndrome hepato-

renal tipo 1 (SHR-1), comparando un grupo sin infección activa(SHR-clásico) con otro con infección activa (SHR-INF).

Métodos: Se estudiaron 25 pacientes cirróticos con insuficiencia renal (IR) con criterios de SHR-1:14 con SHR-clásico y 11 con SHR-INF. Se trataron con TLP (0,5-2 mg/4h iv) y ALB (20-40 g/d iv). Previamente, se habían suspendido los diuréticos y realizado expansión con ALB durante al menos 48h, sin mejoría de la IR. Se analizó la respuesta al TTO en ambos grupos y su evolución posterior hasta el trasplante hepático (TH), fallecimiento o última revisión. **Definiciones:** *Respuesta completa (RC)*, descenso en la creatinina sérica (Cr) hasta valores < 1,5 mg/dl; *Respuesta parcial (RP)*, reducción en la Cr > 50% del valor máximo alcanzado; *No respuesta (NR)*, no descenso o disminución $\leq 50\%$ del nivel máximo de Cr. Se investigaron posibles factores predictivos asociados a la respuesta al TTO y a la supervivencia. Las variables numéricas se expresan en mediana y rango intercuartílico [P_{25} - P_{75}].

Resultados: Edad = 57 años [50,5-59]. Sexo: 20 hombres (80%). Etiología: alcohol 21 casos (84%). Grado Child-Pugh (C-P) = 9 [8-10]. MELD = 30 [24-32]. Creat = 4 mg/dl [3,3-4,5]. Ambos grupos fueron homogéneos en las características basales y en la severidad de la IR (Cr: SHR-clásico, 3,8 mg/dl [3,2-4,3] vs SHR-INF, 4,3 mg/dl [3,6-5,3]; $p = NS$), pero el grupo SHR-clásico mostró peor grado C-P (9,5 [9-10] vs 8 [7,5-9]; $p = 0,04$). La mediana de la dosis de TLP fue 1 mg iv/4h (0,5-2) y la mediana de la duración del TTO de 6 días (3-28). Al final del TTO se observó una mejoría significativa en los valores de Urea, Cr, Na sérico y tensión arterial media, tendiendo a ser mayor la mejoría en el grupo SHR-INF. Se obtuvieron 19 RC (76%), 2 RP (8%) y 4 NR (16%). Recidivaron 6/19 RC (32%), con 4RC y 2RP al re-TTO. La RC tendió a ser más frecuente en el grupo SHR-INF (90,9 vs 64,3%; $p = NS$), no asociándose a ninguna variable pre-TTO. Tras una mediana de seguimiento de 56 días (5-913), 11 pacientes (44%) fallecieron pre-TH y 10 (40%) se trasplantaron (2 fallecieron post-TH). La mortalidad pre-TH tendió a ser mayor en el SHR-clásico (57,1 vs 27,3%; $p = NS$) y se asoció al tipo de respuesta (NR 100%, RP 50%, RC 32%; $p = 0,039$). La supervivencia actuarial también se asoció al tipo de respuesta ($p = 0,0001$) y fue mayor en el SHR-INF ($p = 0,043$).

Conclusiones: 1) El TTO con TLP y ALB mostró una eficacia elevada en ambos tipos de SHR-1 y permitió que un 40% de los enfermos pudieran ser trasplantados. 2) La respuesta al TTO no se asoció a la severidad de la IR, ni de la disfunción hepática pre-TTO y tendió a ser mayor en el SHR-INF. 3) La supervivencia se asoció al tipo de respuesta y fue mayor en el SHR-INF. 4) Estos resultados justifican el TTO con TLP y ALB también en el SHR-INF, donde los resultados pueden ser incluso mejores que el SHR-clásico.

LA ACTIVACIÓN BETA-ADRENÉRGICA DISMINUYE LA RESISTENCIA VASCULAR EN HÍGADOS CONTROLES Y SE ENCUENTRA ALTERADA EN HÍGADOS CIRRÓTICOS

V. Matei, A. Rodríguez-Vilarrupla, M. Fernández, J. Bosch y J.C. García-Pagán

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

El sistema adrenérgico, a través de la activación de los receptores alfa (vasoconstrictor) y beta (vasodilatador), juega un papel importante regulando el tono vascular. La existencia de un desequilibrio en este sistema se ha implicado como responsable del aumento de tono vascular que se observa en diferentes situaciones patológicas, como la hipertensión arterial o la angiopatía diabética.

En la cirrosis, existe una respuesta exagerada de la circulación intrahepática a los estímulos alfa-adrenérgicos que contribuye al aumento de la resistencia intrahepática al flujo portal y por ende al desarrollo de hipertensión portal. El objetivo del presente estudio fue caracterizar el papel de los receptores vasodilatadores beta-adrenérgicos modulando el tono vascular en hígados controles y cirróticos. Se realizaron curvas dosis respuesta al agonista beta isoproterenol (ISO: 10^{-9} - 10^{-5} mol/l) de la presión de perfusión portal (PP) en hígados aislados y perfundidos de ratas control y cirróticas. ISO indujo una disminución dosis dependiente de PP tanto en hígados control

como cirróticos. Sin embargo, este efecto fue significativamente menor en los hígados cirróticos (10^{-7} : -11 vs -23%; 10^{-6} : -25 vs -49%; 10^{-5} : -27 vs -49%; $p < 0,01$).

En hígados control, la preincubación con propranolol (bloqueante beta1 y beta2) o con ICI118551 (bloqueante selectivo beta2) atenuó de forma semejante y casi completa el descenso de la PP ocasionada por ISO, sugiriendo que el efecto de ISO es mayoritariamente mediado por beta2. El efecto vasodilatador beta2 está fundamentalmente mediado por la activación de adenilato ciclasa. Por ello, se realizaron curvas dosis respuesta a forskolina (activador directo de adenilato ciclasa) en hígados control y cirróticos observándose un descenso similar de la PP en ambos grupos, sugiriendo que la deficiencia respuesta a ISO de los hígados cirróticos sería debida a un defecto en la señalización al receptor beta por encima de adenilato ciclasa. La relajación beta-dependiente, puede también estar mediada por un aumento de ON a nivel endotelial. Por ello, evaluamos la respuesta a ISO en hígados de ratas control incubados con el inhibidor de NOS (LNNA). El descenso de la PP provocado por ISO fue similar en magnitud en hígados preincubados con LNNA o hígados preincubados con vehículo, lo que sugeriría que la activación beta es NO-independiente. En conclusión, la estimulación beta adrenérgica (primordialmente beta2) disminuye el tono vascular de los hígados controles. La alteración de esta vía, en los hígados cirróticos, contribuiría a aumentar la resistencia vascular intrahepática y al desarrollo de hipertensión portal.

LA LIGADURA ENDOSCÓPICA ES EFICAZ EN LA PREVENCIÓN DE LA RECIDIVA HEMORRÁGICA POR VARICES ESOFÁGICAS EN PACIENTES NO RESPONDEDORES AL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

S. Agustín^a, A. González^a, L. Muntaner^a, M. Pérez^b, J. Dot^c, E. Saperas^d y J. Genescà^a

^aMedicina Interna-Hepatología, ^bRadiología Intervencionista,

^cEndoscopia Digestiva, ^dAparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

Los pacientes no respondedores al tratamiento farmacológico en la prevención secundaria de la hemorragia por varices presentan altas tasas de recidiva hemorrágica. No se conoce cuál es el tratamiento más adecuado en estos pacientes.

Objetivo: Evaluar la eficacia de la ligadura endoscópica en la prevención de la recidiva hemorrágica en pacientes no respondedores al tratamiento farmacológico.

Métodos: Se estudiaron pacientes con cirrosis hepática ingresados por hemorragia aguda por varices esofágicas. A todos los pacientes se les determinó el gradiente de presión venosa hepática (GPVH) a los 4-6 días de la hemorragia inicial. Inmediatamente se inició tratamiento con nadolol y mononitrato de isosorbide (MNI). A los 5-7 días de alcanzar dosis máximas toleradas (hasta 160 mg/d para nadolol y 80 mg/d para MNI), se repitió el GPVH. Los pacientes respondedores (GPVH \leq 12 mmHg o descenso \geq 20%) se mantuvieron con igual tratamiento, y en los no respondedores (GPVH $>$ 12 mmHg o descenso $<$ 20%) se añadió ligadura endoscópica cada 2-3 semanas hasta erradicación de las varices.

Resultados: Hasta ahora se han incluido 32 pacientes (24 varones, edad media 46 años) con al menos 3 meses de seguimiento. El tiempo medio hasta el primer estudio hemodinámico fue de $5,2 \pm 1,0$ días. La distribución por Child fue: 14 Child A, 13 Child B, 5 Child C. Dos pacientes presentaron una recidiva hemorrágica antes del segundo GPVH (grupo C). En los 30 pacientes restantes se determinó un segundo GPVH a los $13,4 \pm 1,6$ días del primero, y se clasificaron como: respondedores (16 pacientes, 53%) (grupo A) y no respondedores (14 pacientes, 47%) (grupo B). El seguimiento medio fue de 22,5 meses. Los resultados de recidiva hemorrágica y mortalidad durante el seguimiento se muestran en la tabla:

	Total N = 32	Grupo A N = 16	Grupo B N = 14	Grupo C N = 2
Recidiva H.	5 (15%)	2 (12%)	1 (7%)	2 (100%)
Muerte	3 (9%)	1 (6%)	2 (14%)	0
Muerte x H.	0	0	0	0
Trasplante	3 (9%)	0	2 (14%)	1 (50%)

Todas las recidivas hemorrágicas fueron por varices. H = hemorragia.

Conclusión: Los resultados preliminares de nuestro estudio sugieren que la ligadura endoscópica puede ser altamente eficaz en la prevención de la recidiva hemorrágica por varices esofágicas en pacientes no respondedores al tratamiento farmacológico.

TRATAMIENTO COMBINADO CON b-BLOQUEANTES Y MONONITRATO DE ISOSORBIDE FRENTE A LIGADURA ENDOSCÓPICA PARA LA PREVENCIÓN DE RECIDIVA HEMORRÁGICA VARICOSA: UN METAANÁLISIS

V. Hernández-Gea^{a,b}, A. Colomo^{a,b}, I. Guich^c, C. Aracil^a, J. Gordillo^{a,b}, C. Álvarez-Urrutia^{a,b}, I. Ordás^a, C. Guarner^{a,b}, C. Villanueva^{a,b} y J. Balanzó^{a,b}

^aUnitat Sagnants. Servei Patologia digestiva. Hospital Sant Pau.

Barcelona. ^bCIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ^cServei d'Epidemiologia. Hospital Sant Pau. Barcelona.

Tanto el tratamiento farmacológico combinado con betabloqueantes y mononitrato de isosorbide como el tratamiento endoscópico mediante ligadura de varices, son opciones terapéuticas de primera línea para la prevención de recidiva hemorrágica por varices esofágicas. Distintos estudios han comparado ambos tratamientos con resultados discordantes. El objetivo del presente estudio consistió en evaluar la eficacia y seguridad de ambos tratamientos mediante el metaanálisis de los estudios randomizados existentes.

Métodos: Se revisaron las bases de datos MEDLINE y Cochrane Library para detectar estudios randomizados en los que se comparara la asociación de β -bloqueantes y nitratos contra la ligadura endoscópica, para la prevención de la recidiva hemorrágica por varices esofágicas. Se evaluaron las diferencias entre ambos tratamientos en cuanto a la incidencia de recidiva hemorrágica, complicaciones (totales y severas) y supervivencia. Para cada evento se calculó la odds ratio (OR) con intervalos de confianza 95% (IC 95%).

Resultados: Se hallaron 6 estudios randomizados (uno de ellos disponible únicamente como abstract) en los que se incluyeron un total de 713 pacientes. La mayoría de los pacientes incluidos en estos estudios fueron Child-Pugh B/C (76%) y en un 42% la etiología de la hepatopatía fue alcohólica. No se observaron diferencias entre el tratamiento farmacológico y el endoscópico en la tasa de recidiva hemorrágica (OR = 0,93, IC 95% = 0,56 a 1,54), con test de heterogeneidad al límite de la significación ($P = 0,05$). La tasa global de complicaciones también fue similar con ambos tratamientos (OR = 0,93, IC 95% = 0,64 a 1,37), mientras que el tratamiento farmacológico redujo significativamente la incidencia de complicaciones graves (OR = 0,35, IC 95% = 0,1 a 0,6; $P < 0,01$). Se observó una tendencia a una menor mortalidad con el tratamiento farmacológico respecto al endoscópico, aunque sin alcanzar significación estadística (OR = 0,73, IC 95% = 0,49 a 1,09; $P = 0,1$). Únicamente se observó heterogeneidad en la recidiva hemorrágica.

Conclusiones: Tanto el tratamiento farmacológico combinado con β -bloqueantes y mononitrato de isosorbide como la ligadura endoscópica consiguen una incidencia similar de recidiva hemorrágica. La incidencia global de complicaciones también es similar con ambas terapéuticas. Sin embargo, la tasa de complicaciones graves se reduce significativamente con el tratamiento farmacológico. Se observa también una clara tendencia a una mejor supervivencia con el tratamiento farmacológico respecto al endoscópico.

LA DETERMINACIÓN DE PÉPTIDO NATRIURÉTICO CEREBRAL COMO TEST DE DISFUNCIÓN VENTRICULAR IZQUIERDA EN LOS ENFERMOS CON CIRROSIS HEPÁTICA

X. García-Aguilera^a, M.A. Rodríguez-Gandía^a, M. Rivero^a, E. Garrido^a, V.F. Moreira^a, J. Moya^b, W. Jiménez^c y L. Ruiz del Arbol^a

^aUnidad de Hemodinámica del Servicio de Gastroenterología y

^bInstituto de Cardiología Hospital Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá. Madrid. ^cDepartamento de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínico. Universidad de Barcelona.

La miocardiopatía cirrótica es una entidad clínicamente silente con alteraciones estructurales y en la función cardíaca. Las concentra-

ciones circulantes de péptido natriurético cerebral (PNC) están elevadas en la disfunción ventricular izquierda y se ha demostrado una relación con los índices de función cardíaca.

Objetivo: Investigar los niveles plasmáticos de PNC en cirrosis, su relación con la estructura y función cardíaca y si pueden ser utilizados como marcador de disfunción ventricular izquierda asintomática.

Material y métodos: Prospectivamente 55 enfermos con cirrosis (los alcohólicos en abstención > 1 año) fueron investigados mediante (1) cateterismo cardíaco derecho, (2) ecocardiografía transtorácica en modo M convencional y Doppler, (3) determinaciones plasmáticas de péptido natriurético cerebral (PNC) y hormonas vasoactivas. Criterios de exclusión: edad > 60 años, hipertensión arterial, enfermedad cardíaca, diabetes mellitus, o enfermedad grave así como medicamentos que afecten la función cardíaca. Los cirróticos fueron distribuidos por grupos (12 con h.portal sin ascitis y 43 con ascitis) y comparados con 15 voluntarios sanos de similar edad y sexo. En el grupo de ascitis había un subgrupo de 10 enfermos con insuficiencia renal (IR) (creatinina < 2 mg/dL).

Resultados: Los cirróticos comparados con los controles tenían significativamente ($p < 0,01$) un prolongado tiempo de desaceleración (TD) (indicando una reducción en la relajación ventricular) e incremento en la masa del ventrículo izquierdo. El grupo ascitis-IR tenía disfunción diastólica más acentuada y una alteración en el llenado diastólico caracterizado por una disminuida relación E/A ($p < 0,05$) debido a un incremento en el pico de velocidad A (flujo diastólico final) ($p < 0,05$). En este subgrupo ascitis-IR, la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) era significativamente inferior ($p < 0,01$) a los otros grupos de cirrosis e igual que los controles, pero a diferencia de todos los grupos tenían un mayor volumen al final de la diástole y deterioro circulatorio (menor presión arterial media y gasto cardíaco ($p < 0,05$) con mayor actividad de las hormonas vasoactivas ($p < 0,05$)). Los niveles de PNC (pg/ml) eran similares en los enfermos sin ascitis (16 ± 1) y en controles (13 ± 4) pero significativamente ($p < 0,05$) más elevados en los cirróticos ascíticos (65 ± 8) y en ascitis-IR (162 ± 44). PNC > 50 pg/ml y 100 pg/ml, únicamente se observó en 13 y 5 pacientes con ascitis y en 7 y 5 con ascitis-IR, respectivamente. Los niveles de PNC no tenían relación con parámetros estructurales ni con el flujo transmitral (E, A, E/A, TD, IVRT) que analiza la función diastólica. En un modelo de regresión, PNC se relacionaba significativamente con la presión capilar pulmonar y la FEVI.

Conclusión: Las concentraciones plasmáticas de PNC están elevadas en la cirrosis con ascitis y pueden ser usadas como biomarcador de disfunción ventricular izquierda

Investigación básica

IL-6 E IGF-1 COMO FACTOR PRONÓSTICO EN LA PROGRESIÓN DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA Y DE LA ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA EN LOS PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA

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

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

Introducción: La esteatosis hepática (EH) es una complicación relevante en los pacientes con obesidad mórbida, y puede avanzar hacia una esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Los fenómenos de estrés oxidativo, probablemente la apoptosis y diversas citoquinas han sido implicados en la progresión de la EH y de la EHNA.

Objetivos: El propósito del estudio realizado fue el de determinar la asociación entre los parámetros bioquímicos, clínicos y de citoquinas (IL-6 e IGF-1) con la aparición de EH y EHNA en el suero de pacientes con obesidad mórbida.

Material y métodos: Se obtuvieron muestras de suero y biopsia hepática procedentes de 36 pacientes con obesidad mórbida ingresados en el Hospital Universitario Reina Sofía. Se recogieron datos de análisis bioquímicos, insulina, IL-6 e IGF-1 en el suero de estos pacientes. Se determinó el grado de esteatosis (oil-red), fibrosis (Masson) y grado de lesión histológica (hematoxilina-eosina y TUNEL) en las biopsias hepáticas. La presencia de esteatohepatitis se definió según los criterios NAS (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Activity Score)

Resultados: El análisis histológico detectó la presencia de apoptosis celular en las muestras hepáticas procedentes de los pacientes con obesidad mórbida. El análisis univariante demostró que en los pacientes con obesidad mórbida con una EH grave (grado 3-4) se incrementa de forma significativa el HOMA ($p < 0,05$), glucosa ($p < 0,02$), insulina ($p < 0,05$), transaminasas ($p < 0,05$) e IL-6 ($p < 0,05$), y se reduce la concentración circulante de IGF-1 ($p < 0,05$) en comparación con los valores obtenidos en pacientes con EH leve (grado 1-2). El análisis multivariante mostró como variables predictoras independientes de una EH grave unos valores de glucosa > 110 mg/dl ($p < 0,032$), IL-6 > 3.12 pg/ml ($p < 0,05$) e IGF-1 < 110 ng/ml ($p < 0,03$), con un valor predictivo del 85.7% para una EH grave. Las variables HOMA ($p < 0,003$), insulina ($p < 0,023$), transaminasas (AST $p = 0,002$ y ALT $p < 0,001$), GGT ($p < 0,001$), e IGF-1 ($p = 0,006$) se asociaron de modo significativo con la presencia de EHNA en el análisis univariante. El análisis multivariante demostró que HOMA > 4.5 ($p = 0,0035$) e IGF < 110 ng/ml ($p = 0,02$) eran factores predictivos independientes de EHNA, con un valor predictivo del 83.3%.

Conclusiones: Niveles de glucosa > 110 mg/dl, IL-6 > 4.81 pg/ml y IGF-1 < 130 ng/ml, además de un HOMA > 4.5 e IGF < 110 ng/ml son factores predictivos independientes del grado de EH y de EHNA en los pacientes obesos mórbidos.

LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS OMEGA-3 DISMINUYEN LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN EL TEJIDO ADIPOSO Y PROTEGEN DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA EN RATONES OBESOS

A. González-Pérez^a, N. Ferré^a, R. Horrillo^a, A. Planagumà^a, M. Martínez-Clemente^a, M. López-Parra^a, K. Gronert^b, V. Arroyo^c, J. Rodés^c y J. Clària^a

^aServicio de Bioquímica y Genética Molecular, ^bUnidad de Hígado, Hospital Clínic, Centro de Investigaciones Biomédicas Esther Koplowitz (CIBER) y CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Barcelona, España; ^cDepartment of Pharmacology, New York Medical College, Valhalla, NY, EUA.

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 ejercen un amplio espectro de efectos beneficiosos, entre los que destacan sus propiedades hipolipemiantes y antiinflamatorias.

Objetivo: Investigar los potenciales efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en ratones obesos deficientes en leptina (ratones *ob/ob*), un modelo genético que reproduce las alteraciones metabólicas que se manifiestan en la esteatohepatitis no alcohólica.

Métodos: El estudio se realizó en ratones macho *ob/ob* de 5 semanas de edad divididos aleatoriamente en dos grupos que recibieron una dieta control ($n = 8$) o una dieta enriquecida en el ácido graso omega-3 ácido docosahexaénico (DHA; C22:6n-3) ($n = 16$) durante 5 semanas. Tras este periodo de tiempo, se obtuvieron muestras de tejido adiposo y hepático para el análisis histológico y el estudio de la expresión de adipocinas y genes lipogénicos. En un grupo adicional de ratones *ob/ob* tratados de forma aguda con placebo ($n = 5$) o DHA (4 µg/g p.c., i.p.) ($n = 5$) se realizaron test de tolerancia a la insulina. Además, se evaluó el efecto *in vivo* de la resolovina E1 (1.2 ng/g p.c., i.p.) y el efecto *ex vivo* en explantes de tejido adiposo de la protectina D1 (100 nM), dos docosanoídeos biológicamente activos derivados de los ácidos grasos omega-3 y de reciente caracterización (Nature 2007;447:869-74).

Resultados: La administración de una dieta enriquecida en ácidos grasos omega-3 a ratones *ob/ob* produjo un descenso de la esteatosis hepática, evaluada mediante la cuantificación morfométrica del

área teñida con Oil Red-O. En estos animales, el efecto protector de los ácidos grasos omega-3 se asoció a un aumento significativo de la expresión de la adipopina hepatoprotectora y antiinflamatoria adiponectina y de genes implicados en los mecanismos de sensibilización a la insulina, como PPAR γ , GLUT-4 e IRS-1 en el tejido adiposo. Los test de tolerancia a la insulina confirmaron estos resultados al demostrar una mejora significativa de la sensibilidad a esta hormona en ratones *ob/ob* tratados con ácidos grasos omega-3. Los nuevos docosanoides contribuirían a los efectos sensibilizantes a la insulina de los ácidos grasos omega-3, ya que la resolvina E1 aumentó significativamente la expresión de adiponectina, PPAR γ , GLUT-4 e IRS-1 en el tejido adiposo y la protectina D1 aumentó la expresión de adiponectina en explantes de tejido adiposo. Tras la administración de los ácidos grasos omega-3, no se apreciaron cambios significativos en la expresión de TNF- α e IL-6 ni en la expresión de genes lipogénicos como SCD1 y SREBP-1c.

Conclusión: Estos resultados indican que los ácidos grasos omega-3 ejercen un efecto protector al disminuir la resistencia a la insulina en el tejido adiposo y reducir la esteatosis hepática relacionada con la obesidad.

EL ANTIDIABÉTICO ORAL PIOGLITAZONA EJERCE EFECTOS METABÓLICOS DIRECTOS EN EL HÍGADO E INHIBE LA RELACIÓN ATP/ADP HEPÁTICA INDEPENDIENTE DEL SUSTRATO ENERGÉTICO EMPLEADO EN UN MODELO DE HEPATOCITOS EN PERIFUSIÓN

C. Sánchez^a, N. Sanz^a, D. Detaille^a, J.M. López-Novoa^a, G. R-Villanueva^a, F. Alonso^a y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología, Universidad Salamanca.

Antecedentes: La tiazolidinadiona pioglitazona (PIO) es un medicamento antidiabético oral que aumenta la sensibilidad a la insulina y disminuye la glucemia por activación indirecta de los receptores nucleares PPAR γ . Pero estudios previos de nuestro equipo demostraron que PIO es capaz de ejercer “in vitro” efectos hipoglucemiantes DIRECTOS y AGUDOS, no mediados por los receptores PPAR γ , cuando el sustrato energético empleado era dihidroxiacetona (DHA).

Objetivos: Investigar “in vitro” las acciones metabólicas DIRECTAS y AGUDAS de PIO (gluconeogénesis y glucólisis hepáticas) a partir de distintos sustratos energéticos en hepatocitos de rata en perfusión así como estudiar el efecto de PIO sobre la relación ATP/ADP hepática.

Métodos: Usando la técnica de perfusión de células, los hepatocitos, aislados previamente según la técnica de Berry y Friend, eran perfundidos continuamente a 37 °C con tampón Krebs-bicarbonato saturado con O₂/CO₂ (19/1) y eran titulados con DHA, glicerol, fructosa o lactato/piruvato como sustrato energético en presencia o ausencia de PIO 25 μ M para obtener siete estados estacionarios reales y sucesivos. En cada uno de los estados, se determinó la concentración de glucosa (J_{Glucosa}) y de lactato-piruvato ($J_{\text{L+P}}$) en el perfusato celular por técnica espectrofotométrica. En muestras celulares, se midió la concentración de ATP y ADP por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

Resultados: En hepatocitos perfundidos, utilizando DHA como sustrato, la PIO fue la responsable de una inhibición del 38% con respecto al control sobre la gluconeogénesis (GNG). Al usar otros sustratos energéticos tales como la fructosa, el glicerol o lactato/piruvato (L/P) en hepatocitos de rata, la PIO también causó una inhibición de la GNG en un 32%, en un 29% y en un 26% en función del sustrato empleado. En cuanto a la glicólisis hepática, la PIO estimuló dicho proceso en un 11% en presencia de DHA como sustrato. Además, la PIO modificó la relación ATP/ADP tanto citosólica como mitocondrial al usar como sustratos DHA y L/P.

Conclusión: La PIO ejerce efectos antidiabéticos DIRECTOS y AGUDOS a nivel hepático, inhibiendo la gluconeogénesis independientemente del sustrato utilizado, al mismo tiempo que estimula la glicólisis. La inhibición de la gluconeogénesis por acción de la pioglitazona podría explicarse por el descenso de la relación ATP/ADP.

LA CITOPROTECCIÓN POR ALFA-TOCOPHEROL SE RELACIONA CON LA REGULACIÓN GÉNICA DURANTE LA MUERTE CELULAR POR D-GALACTOSAMINA EN HEPATOCITOS HUMANOS EN CULTIVO

G. Ferrín^a, R. González^a, I. Ranchal^a, A.B. Hidalgo^a, J. Briceño^b, S. Nell^c, M.J. Tamayo^d, E. Fraga^a, A. Bernardos^d, P. López-Cillero^b, J.M. Pascussi^c, S. Rufián^b, M.J. Vilarem^c, M. de la Mata^a, R. Brigelius-Flohe^c, P. Maurel^c y J. Muntané^a

^aLiver Research Unit y ^bDepartamento de Cirugía, Hospital Reina Sofía, CIBERehd, Córdoba. ^cDepartment of Biochemistry and Micronutrients, German Institute of Human Nutrition, Nuthetal, Germany. ^dUnidad Cirugía HBP y Trasplantes, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla. ^eINSERM U632, Montpellier, France.

Introducción: La vitamina E se asocia con la prevención de estrés oxidativo en la lesión hepática. La muerte celular por D-galactosamina (D-GalN) está mediada por el óxido nítrico con alteración del metabolismo lipídico celular. El objetivo del estudio es la identificación de α -tocoferol como regulador de la expresión de genes implicados en la muerte celular en hepatocitos.

Material y métodos: Los hepatocitos se aislaron de biopsias humanas obtenidas de pacientes sometidos a resección hepática. El α -tocoferol (50 μ M) se administró en estadios avanzados (10 h) de muerte celular por D-GalN (40 mM) en hepatocitos humanos. Se valoró la apoptosis y necrosis celular, estrés oxidativo, metabolismo de α -tocoferol y expresión de genes regulados por NF- κ B, PXR y PPAR- α . Se realizaron estudios de transfección celular con la región promotora de CYP3A4 y de sobreexpresión de PXR en HepG2.

Resultados: D-GalN induce, muerte celular, estrés oxidativo y nitrosativo, altera el metabolismo de la vitamina E y la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico. α -tocoferol redujo de forma moderada el estrés oxidativo celular. La utilización de inductores o inhibidores del CYP3A4 indican que el incremento de la expresión PXR-dependiente de CYP3A4 por α -tocoferol no se relaciona con sus propiedades citoprotectoras. Sin embargo, la reducción de la activación de NF- κ B y la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (NOS-2), y el incremento de PPAR- α y de carnitina palmitoil transferasa (CPT1) por α -tocoferol son relevantes para la supervivencia celular.

Conclusión: Las propiedades citoprotectoras de α -tocoferol se relacionan principalmente con la regulación de genes implicados en la muerte celular por toxinas en hepatocitos en cultivo.

TRANSPORTE DE ÁCIDOS BILIARES SULFATADOS Y SENSIBILIDAD A ESTEROIDES COLESTÁTICOS DE LA BOMBA ABCG2 CANALICULAR

A.G. Blázquez, O. Briz, M. Romero, R. Rosales, M.J. Pérez, E. Herráez, C. Ghanem, F. Jiménez y J.J.G. Marín

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

Antecedentes: La proteína ABCG2 o BCRP es un transportador de la familia ABC (ATP-binding Cassette) que confiere resistencia a la quimioterapia en distintos tipos de cáncer (Breast Cancer Resistance Protein), pero que también se expresa en tejidos sanos, como en la membrana canalicular de los hepatocitos, donde se desconoce su papel fisiológico.

Hipótesis: En estudios anteriores presentados al congreso de la AEEH de 2007, se mostró la incapacidad de la ABCG2 de transportar ácidos biliares mayoritarios (no sulfatados). Sin embargo, en colestasis aumenta la sulfatación de los ácidos biliares, por lo que, si los transportase la ABCG2 canalicular, esta bomba podría constituir una vía alternativa de secreción de ácidos biliares en colestasis asociadas a una ausencia de funcionamiento de la bomba exportadora de ácidos biliares (BSEP).

Objetivos: Investigar la capacidad de la ABCG2 para transportar ácidos biliares sulfatados y su sensibilidad al efecto de esteroides colestáticos inhibidores de la BSEP.

Métodos y resultados: Para los estudios de transporte se utilizó un modelo de expresión heteróloga en oocitos de rana *Xenopus laevis*.

A partir del mRNA purificado de células JAr de coriocarcinoma humano, se clonó en el vector pSPORT1 el cDNA correspondiente a la ORF de la ABCG2. Esto permitió sintetizar *in vitro* el mRNA de ABCG2 que se microinyectó en los oocitos. La expresión funcional de ABCG2 se comprobó mediante su capacidad para transportar un sustrato típico, la mitoxantrona (MX), en presencia o no de un potente inhibidor de la ABCG2, la fumitremorgina C (FTC). Los oocitos que expresaban ABCG2 cargaron un 40% menos de MX que los controles. Este efecto fue abolido en presencia de la FTC. Como sustrato natural a estudio se utilizó el ácido taurosulfototóxico marcado radiactivamente ($[^3\text{H}]$ -TSLC), que se sintetizó en nuestro laboratorio a partir de ácido sulfototóxico (SLC) y de $[^3\text{H}]$ -taurina. El $[^3\text{H}]$ -TSLC se microinyectó junto con $[^{14}\text{C}]$ -inulina (utilizada como marcador de flujo inespecífico). Tras 60 min de flujo, el contenido de $[^3\text{H}]$ -TSLC se redujo significativamente ($p < 0,05$) en los oocitos que expresaban ABCG2, pero no en los controles. Como modelo de esteroide colestático se utilizó el 17β -D-glucuronido de estradiol (17β GE), que se colocó o bien dentro, junto al sustrato (cis), o fuera (trans) del oocito. En ambas situaciones el 17β GE inhibió el transporte de $[^3\text{H}]$ -TSLC mediado por ABCG2 sin ejercer ningún efecto sobre el grupo de oocitos control.

Conclusión: La ABCG2 es capaz de transportar ácidos biliares sulfatados. Así pues, la ABCG2 puede ser una vía alternativa a la BSEP para la secreción de ácidos biliares. Sin embargo, puesto que los esteroides colestáticos podrían inhibir el funcionamiento de la ABCG2 desde dentro del hepatocito (cis-inhibición) y una vez que se encuentra en la luz canalicular (trans-inhibición), esta vía podría estar también bloqueada en las colestasis inducidas por esteroides inhibidores de la BSEP.

LA INMUNIZACIÓN CON CÉLULAS DENDRÍTICAS TRANSDUCIDAS CON ADENOVIRUS PORTADORES DE CD40L Y AFP INHIBE ESPECÍFICAMENTE EL CRECIMIENTO TUMORAL DE HCC IN VIVO

M.A. González-Carmona^a, C. Schneider^a, I. Schmidt-Wolf^a, V. Schmitz^a, T. Sauerbruch^a y W.H. Caselmann^b

^aDepartment of Internal Medicine I, University of Bonn; ^bBavarian State Ministry of the Environment, Public Health and Consumer Protection, Munich, Germany.

Introducción: Las células dendríticas (DC) son células presentadoras de antígenos capaces de inducir una respuesta inmunológica contra antígenos asociados tumorales. El antígeno más relevante asociado al carcinoma hepatocelular (HCC) es la α -fetoproteína (AFP). En estudios anteriores fue posible inducir una respuesta inmune específica contra la AFP usando DC. Sin embargo su potencial se ha mostrado muy limitado en primeros estudios clínicos. CD40L es una molécula co-estimuladora cuya interacción con CD40 es esencial para la activación de las DC y para la inducción de células T específicas. En este estudio, DC fueron transducidas con adenovirus (Ad) que expresan AFP y CD40L para incrementar la potencia de la respuesta inmune contra HCC AFP-positivos *in vivo*.

Métodos: Tres Ad fueron utilizados: Ad-mAFP (vector que codifica la AFP murina), Ad-CD40L (con CD40L ligando) y Ad-Mock (sin transgen). DC fueron obtenidas de la médula ósea de ratones C3H. Tras 6 días de cultivo con GM-CSF e IL-4 se realizó la transducción adenoviral (MOI 250). La expresión de CD40L, así como de las moléculas co-estimuladoras CD80 y CD86 se analizaron mediante citometría de flujo. Los niveles de IL-12 se midieron en un ELISA. Células linfocíticas aisladas del bazo fueron co-cultivadas con las DC. Su capacidad lítica contra células HCC se determinó en un ^{51}Cr -release-assay. La inmunización de los ratones con DC se realizó mediante inyección subcutánea en el flanco izquierdo. Una semana después de la segunda vacunación se implantaron tumores subcutáneos en el flanco derecho usando 1×10^6 células Hepa129.

Resultados: 48h tras la transducción con Ad-CD40L más del 40% de las DC expresaron CD40L. CD40L-DC mostraron una expresión de CD80 y CD86 incrementada así como grandes cantidades de IL-

12 ($830,3 \pm 50 \text{ pg/ml}/10^6 \text{ DC}$). Linfocitos co-cultivados con Ad-mAFP/Ad-CD40L-DC mostraron una citotoxicidad elevada contra células Hepa129 comparados con linfocitos co-cultivados con Ad-mAFP-DC o Ad-Mock-DC ($p < 0,05$). La inmunización con mAFP-DC redujo el crecimiento de HCC AFP-positivos en comparación con Mock-DC. Este efecto no se produjo en tumores AFP-negativos, indicando una respuesta inmune específica. La combinación mAFP/CD40LDC reducía significativamente el crecimiento tumoral comparado con Ad-mAFP-, Ad-Mock-DC. 18 días tras la implantación tumoral, el volumen era $320,6 \pm 104,4 \text{ mm}^3$ en ratones inmunizados con CD40L/mAFP-DC vs $822,2 \pm 175,1 \text{ mm}^3$ en ratones tratados con mAFP-DC ($p = 0,035$).

Conclusión: Ad-CD40L estimula las DC induciendo una elevación de CD80/CD86 así como de IL-12. La inmunización con DC transducidas con Ad-mAFP y Ad-CD40L incrementa considerablemente el efecto antitumoral de DC causando una inhibición específica del crecimiento de HCC. Esta aplicación podría constituir una nueva estrategia para inmunizar a pacientes con HCC.

INTERRELACIÓN ENTRE LA INHIBICIÓN DE LA GLICÓLISIS HEPÁTICA PRODUCIDA POR EL MEDICAMENTO HEPATO-PROTECTOR SILIBININA Y LA INHIBICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES EN HEPATOCITOS DE RATAS PERIFUNDIDOS

D. Dettaille^a, C. Sánchez^a, N. Sanz^a, J.M. López-Novoa^a, B. Guigas^b, M.V. Rascón-Trincado^c y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Salamanca. ^bLeiden University Medical Center, The Netherlands.

^cDepartamento de Medicina, Universidad de Salamanca.

Antecedentes: La Silibinina (SB) es el principal flavonoide de la Silimarina, un extracto estandarizado de *Silbum Marianum*, utilizado por sus efectos hepatoprotectores en clínica. Además, varios estudios con diferentes modelos experimentales (humanos y animales) demuestran que la SB posee efectos antidiabéticos debido principalmente a sus propiedades hipoglucemiantes y antioxidantes. Incluso, nuestros estudios recientes demostraron que la SB es capaz de inhibir *in vitro* la gluconeogénesis hepática, además de inhibir la respiración mitocondrial.

Objetivos: a) Investigar el efecto *in vitro* de la SB sobre el flujo glicolítico (producción de lactato-piruvato J_{L+P}) y la relación de dicho flujo con el estado redox celular y el potencial fosfato. b) Examinar la capacidad de la SB para prevenir, total o parcialmente, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) usando la técnica de perfusión.

Métodos: Los hepatocitos, aislados de ratas Wistar macho en ayunas, eran titulados con dihidroxiacetona (DHA) o fructosa como sustratos energéticos (de 0 a 4.8mM) en presencia o ausencia de SB a las concentraciones de 25 y 100 μM . Para cada estado estacionario obtenido se determinaron: (i) piruvato y lactato en el perfusato; (ii) los intermediarios metabólicos dihidroxiacetonafofato (DHAP), fosfoenolpiruvato (PEP), 3-fosfoglicerato (3-PG) en muestras celulares; (iii) las concentraciones mitocondriales y citosólicas de ATP, ADP y AMP; (iv) la producción intracelular de ROS que fue evaluada por el cambio en la intensidad de fluorescencia de la sonda diacetato diclorofluorescina.

Resultados: En hepatocitos perifundidos, independientemente del sustrato utilizado, la SB fue la responsable de una inhibición significativa dosis-dependiente entre DHAP y J_{L+P} , sugiriendo un efecto inhibitorio de la SB sobre la actividad de la enzima piruvato kinasa (PK). La determinación de esta actividad enzimática en células incubadas demostró la existencia de una inhibición alostérica por acción de la SB con un descenso de la relación $V/V_{\text{máx}}$ sin afectar significativamente la $V_{\text{máx}}$. Por otra parte, se observó un potente efecto de la SB sobre la fosforilación oxidativa, debido a un aumento del potencial redox citosólico (estimado por la relación lactato/piruvato) asociado a una disminución de la relación ATP/ADP. El resultado más atractivo era que la SB, a una dosis fisiológica próxima a 10 μM , suprimió completamente la producción de ROS en hepatocitos perifundidos con DHA.

Conclusión: El efecto de la SB sobre la glicólisis se debe, por lo menos en parte, a una inhibición de la actividad de la PK con el consiguiente descenso del flujo de piruvato hacia la mitocondria, lo que a su vez acarrea una disminución de la producción de ROS en el hígado. En este sentido, se sugiere que la SB, dentro de su modo de acción, se podría utilizar como una estrategia terapéutica alternativa para atenuar el estrés oxidativo en pacientes diabéticos.

IDENTIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS MOLECULARES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN DE CÉLULAS DE HEPATOMA HUMANO POR HERPES SIMPLEX VIRUS TIPO 1 MEDIANTE PROTEÓMICA SUBCELULAR

E. Santamaría^a, A. Epstein^b, C. Potel^b, J. Prieto^a y F.J. Corrales^a

^aDivisión de Hepatología y Terapia Génica. Unidad de Proteómica. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona, España. ^bUniversité Claude Bernard-Lyon 1. Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire. Lyon, France.

Una de las estrategias más esperanzadoras en la erradicación de los tumores hepáticos es la oncolisis viral. Este proceso consiste en la utilización de la maquinaria replicativa viral para provocar la muerte celular en las células tumorales de manera específica. Para ello, es de vital importancia conocer tanto las dianas celulares como los mecanismos moleculares que modula el virus durante el transcurso de la infección. En el presente trabajo, se ha realizado un análisis de expresión diferencial de las proteínas presentes tanto en el citosol como en la fracción microsomal de células de hepatoma humano (células Huh7) infectadas con un virus Herpes Simplex de tipo 1 (HSV-1) durante 4 y 8 horas respectivamente. Para ello se ha utilizado una combinación de electroforesis diferencial en gel (DIGE) y espectrometría de masas (nanoLC-MS/MS). En total, se han identificado de manera inequívoca 16 proteínas cuya expresión se encuentra alterada en las células infectadas. Tales proteínas participan en diferentes procesos celulares como apoptosis, procesamiento del RNAm, estructura e integridad celular, señalización y degradación asociada al retículo endoplasmático. Entre ellas, cabe destacar la alteración en los niveles de expresión de *RuvB-like 2* (proteína antiapoptótica) así como de *Bax interacting factor-1* (proteína proapoptótica). Además, hemos detectado la alteración en los niveles de expresión tanto de *Erlin-2* como de *fortilin*, proteínas implicadas directamente en la coordinación y el control de la apoptosis dependiente de calcio. Por otro lado y basándonos en los datos obtenidos mediante proteómica, hemos descifrado varios mecanismos a través de los cuales vías de señalización implicadas en supervivencia celular convergen y coordinan el programa apoptótico en células Huh7 infectadas con HSV-1.

EL INTERFERÓN BETA AUMENTA LA EXPRESIÓN GENÉTICA DE LA METALOPROTEINASA 13 (MMP-13) EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS ESTRELLADAS DEL HÍGADO (CEH) CON LA MEDIACIÓN DE JAK1 Y PEA3

T. Díaz Sanjuán, I. García Ruiz, C. Rodríguez Juan, C. Pozo, P. Solís Muñoz, I. Fernández Vázquez, T. Muñoz Yagüe y J.A. Solís Herruzo
Centro de Investigación. Hospital Universitario "12 de Octubre". Madrid.

En estudios preliminares mostramos que el interferón alfa aumenta la expresión genética de la MMP-13. Los objetivos del presente estudio fueron los de confirmar que estos efectos los produce también el IFN β y conocer las vías intracelulares que intervienen en ellos.

Material y métodos: En cultivos primarios de CEH estudiamos los efectos del IFN β sobre el ARNm-MMP13; actividad de la luciferasa en CEH transfectadas con un plásmido MMP-13-luciferasa; unión de AP1 y de PEA3 al ADN y del PEA3 a Jak1 y a Stat1 y, por último, los efectos del silenciamiento genético de Jak1 y PEA3 por interferencia del ARN sobre los efectos del IFN β .

Resultados: 1) el IFN β aumenta la expresión del ARNm de la MMP-13, de la proteína MMP-13 y de la actividad luciferasa en CEH transfectadas con un plásmido controlado por el promotor de

la MMP-13 [p(-1000)MMP-13-Luc] o con el mismo plásmido mutado en el elemento TRE [p(-1000) Δ ADMMP-13-Luc]. 2) Los efectos del IFN β no fueron originados por una vida media más corta del ARN-MMP-13. 3) Las células transfectadas con un plásmido controlados por tres elementos TRE [pTREx3-Luc] no responden al IFN β . 4) Esta citocina provoca la unión de proteínas nucleares a una sonda de ADN con las secuencias consenso para el PEA3 pero no a sondas con las secuencias de AP1. Pruebas de superretardo del ADN mostraron que las proteínas nucleares unidas al ADN eran PEA3 y Stat1. Pruebas de inmunoprecipitación mostraron que PEA3 se une físicamente a Stat1 y que el IFN β aumenta esta unión. 5) Estas mismas pruebas indican que el IFN β induce la unión de PEA3 a Jak1 y su fosforilación en tirosina. 6) Por último, el silenciamiento del ARNm de PEA3 o de Jak1 o la mutación del elemento PEA3 en el promotor de MMP-13 anula los efectos del IFN β sobre la expresión del MMP-13.

Conclusiones: El IFN β determina la unión de PEA3 a Jak1 y provoca la fosforilación en tirosina de PEA3. PEA3 activado se une al promotor del MMP-13, probablemente con la cooperación de Stat1, y aumenta la expresión genética de la MMP-13. Es decir, el IFN β aumenta la expresión de la MMP-13 de rata a través de una vía dependiente de Jak1/PEA3. Estos efectos del IFN β sobre la MMP-13 pudieran explicar los efectos antifibrogénicos de los interferones del tipo I.

EL PARACETAMOL MODIFICA SU PROPIA FARMACOCINÉTICA Y TOXICIDAD POR INDUCCIÓN PREFERENCIAL DE MRP3 HEPÁTICA

C.I. Ghanem^a, M.L. Ruiz^b, S.S.M. Villanueva^b, M.G. Luquita^b, V.A. Catania^b y A.D. Mottino^b

^aInstituto de Investigaciones Farmacológicas -CONICET- y Cátedra de Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires, Argentina. ^bInstituto de Fisiología Experimental, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. CONICET-Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.

Tanto humanos como animales de experimentación tratados durante varios días con paracetamol (P) presentan una disminución de la toxicidad del compuesto, aunque el mecanismo aun es incierto. Su principal metabolito el glucurónido de P (glu-P), es transportado por Mrp2 y Mrp3, proteínas ABC, localizadas en el polo biliar y sinusoidal del hepatocito, respectivamente, facilitando su excreción biliar y renal. Previamente estudiamos el efecto de dosis tóxicas sobre la expresión de transportadores ABC.

Objetivo: En este trabajo se estudió el efecto del tratamiento repetido con dosis subtóxicas de P sobre la expresión y función de las Mrps hepáticas y su papel en los cambios farmacocinéticos de una dosis tóxica de la droga administrada posteriormente.

Métodos: Grupo P: ratas Wistar machos recibieron dosis crecientes de P por 3 días consecutivos (0,2, 0,3 y 0,6 g/kg, i.p.). Grupo C: Recibieron vehículo. A las 24 h se evaluó la funcionalidad hepática y el contenido de las especies de glutatión en hígado y bilis. A 24 hs de la última inyección a otro lote de animales se le administró una dosis tóxica de P (1 g/Kg, i.p.) y se determinó la excreción biliar y urinaria de P y glu-P *in vivo* (1-2 h) y el contenido hepático de glu-P, por HPLC. En otro lote de ratas, en el cual se preservó el circuito enterohepático, se estudió la concentración de P y glu-P hepáticas a las 6 h luego de la dosis de 1 g/kg. La expresión de Mrp2 y Mrp3 se evaluó por inmunoblot e inmunofluorescencia. Los resultados se expresan como media \pm DE (N = 3-5).

Resultados: El grupo tratado con P no presentó movilización de las transaminasas hepáticas ni tampoco se alteró la concentración de las especies de glutatión ni en hígado ni en bilis, al ser comparado con C. El nivel de Mrp2 en membrana plasmática aumentó un 70% y el de Mrp3 un 400% en P vs C ($p < 0,05$). Luego de la administración de la dosis de 1g/kg, la excreción biliar acumulativa de glu-P (% de dosis) disminuyó en P ($8,6 \pm 0,9$) respecto de C ($11,6 \pm 1,9$), mientras que la excreción urinaria aumentó en P ($13,1 \pm 3,9$) vs C ($6,6 \pm 1,9$) ($p < 0,05$). La excreción biliar y urinaria de P no se modificó. El contenido hepático de glu-P disminuyó un 37% en P vs C ($p <$

0,05) y el contenido de P no se modificó entre ambos grupos. En condiciones de preservación del circuito enterohepático y luego de 6 h de la administración de la dosis tóxica, la concentración hepática de glu-P y P disminuyó en un 69 y 26% respectivamente ($p < 0,05$).

Conclusiones: El aumento preferencial de Mrp3 vs Mrp2 favoreció la eliminación urinaria de glu-P por sobre la excreción biliar. El glu-P que se excreta en bilis es usualmente hidrolizado por las glucuronidasas intestinales, liberando P libre, que puede ser reabsorbido llegando nuevamente al hígado. Concluimos que la disminución en la excreción biliar de glu-P en el tratamiento repetido interfiere la recirculación enterohepática de P, con una menor exposición hepática a la droga y posiblemente disminución de su toxicidad.

EFFECTO DE LA INTERLEUQUINA 12 SOBRE EL FUNCIONAMIENTO DE LOS SISTEMAS DE EXPRESIÓN INDUCIBLE ESPECÍFICOS DE HÍGADO

M. Reboredo^{a,d}, M. Zabala^a, I. Mauleon^a, J. de Las Rivas^b, F. Kreppel^c, S. Kochanek^c, J. Prieto^{a,d}, M.G. Kramer^a y R. Hernández-Alcoceba^a

^aDivision of Hepatology and Gene Therapy. School of Medicine. Foundation for Applied Medical Research. CIMA. Pamplona, Spain.

^bBioinformatics and Functional Genomics Research Group Cancer Research Center (CIC-IBMCC, CSIC-USAL), Salamanca, Spain.

^cDivision of Gene Therapy University of Ulm. Germany. ^dCIBERehd. University Clinic. Navarra. Spain.

Antecedentes: La interleuquina 12 (IL-12) es una citoquina inmunostimuladora que ha mostrado un potente efecto antitumoral en diversos modelos pre-clínicos. La expresión de IL-12 mediada por vectores hepatotrópicos se plantea como una nueva estrategia de terapia génica para el tratamiento de los tumores hepáticos primarios y metastásicos. Sin embargo, la toxicidad sistémica de IL-12 ha hecho necesario el desarrollo de métodos de regulación que permitan modular la duración y la intensidad de su expresión. Entre ellos se encuentran los sistemas inducibles por tetraciclina y por mifepristona. En el presente trabajo estudiamos la influencia de IL-12 sobre el funcionamiento de estos sistemas adaptados al hígado.

Métodos: En el caso del sistema tet-on, se ha utilizado la inyección hidrodinámica de plásmidos para lograr la expresión en el hígado de los ratones. El sistema inducible por mifepristona se vehiculiza por medio de un adenovirus de alta capacidad (HC-Ad). En ambos casos la expresión de IL-12 se dirige al hígado gracias a la utilización de promotores hepato-específicos controlando la producción de las proteínas transactivadoras. La cinética de producción de IL-12 tras inducciones diarias con doxiciclina o mifepristona se ha determinado mediante ELISA. La influencia de IL-12 sobre la expresión de genes endógenos se ha estudiado utilizando microarrays y PCR cuantitativa.

Resultados: Tras iniciarse la inducción diaria de IL-12 se observó una disminución progresiva de la respuesta a los inductores en ambos sistemas de regulación. Esta inhibición es transitoria, no se debe a pérdida del transgén, y se correlaciona con una inhibición de la expresión de los transactivadores. De forma análoga, los promotores endógenos de estos genes se encuentran inhibidos en el hígado de los animales. La expresión de IL-12 humana, que no tiene un efecto biológico significativo en ratones, no causó esta inhibición. El mecanismo es dependiente de interferón-gamma (IFN- γ), ya que este fenómeno de silenciamiento no ocurre en ratones deficientes para el receptor de IFN- γ . El tratamiento con inhibidores de deacetilasas de histonas (HDACi) como Butirato Sódico (NaB) es capaz de revertir parcialmente la inhibición.

Conclusiones: La IL-12 produce una inhibición transitoria de los sistemas inducibles dirigidos al hígado. Esto se debe a un silenciamiento de promotores hepato-específicos mediado por IFN- γ , probablemente a través de su influencia sobre el estado de acetilación de histonas. En definitiva, el efecto biológico de los genes terapéuticos debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar estrategias de terapia génica que requieran una expresión sostenida y regulable.

LA EXPRESIÓN DE P27 REDUCE LA MUERTE CELULAR E INCREMENTA EL GRADO DE MUTAGÉNESIS EN HEPATOCITOS EN UN MODELO DE GENOTOXICIDAD EXPERIMENTAL. REPERCUSIÓN EN LOS PROCESOS DE HEPATOCARCINOGENESIS HUMANA

I. Ranchal^a, A. Poyato^a, P. Barrera^a, M. Pleguezuelo^a, T. Marchal^b, K.I. Nakayama^c, M. De la Mata^a y J. Muntané^a

^aLiver Research Unit and ^bPathology Department, Hospital Reina Sofía, CIBERehd, Córdoba. ^cDepartment of Molecular and Cellular Biology, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, Fukuoka.

Antecedentes: El hepatocarcinoma (HCC) presenta mal pronóstico para la recidiva y supervivencia del paciente. La expresión de un inhibidor del ciclo celular o p27 en el HCC ha sido sugerida como una importante diana para la recidiva del tumor. El objetivo es determinar el papel de p27 en estudios *in vitro* de genotoxicidad experimental, y en la diferenciación del tumor en HCC.

Material y métodos: Los hepatocitos se aislaron de ratones control y deficientes en p27 (Jackson Laboratorios) con collagenasa. La sobreexpresión de p27 se realizó mediante la transfección de un plásmido con secuencia codificante de p27 en HepG2. La genotoxicidad fue inducida por AFB1 en hepatocitos en cultivo. Se valoró la apoptosis y necrosis celular, el grado de mutagénesis, proliferación celular y expresión de p27 por Western-blot y RT-PCR. Se incluyeron 24 pacientes con HCC con diversos grados de diferenciación con análisis de la expresión de p27 en tejido tumoral y no tumoral, bioquímica y supervivencia del paciente.

Resultados: AFB1 incrementó el daño en DNA, redujo la expresión de p27 e incrementó la muerte celular. La deficiencia en p27 incrementó la muerte celular con menor presencia de mutaciones en el DNA de los hepatocitos tratados con AFB1. La sobreexpresión de p27 redujo la proliferación y muerte celular, con acumulación del daño en el DNA de HepG2. El análisis de las muestras de pacientes con HCC reveló que los tumores desdiferenciados presentan unos niveles más elevados de expresión de p27.

Conclusiones: 1) AFB1 incrementa el daño en el DNA celular, reduce la expresión de p27 e incrementa la muerte celular en hepatocitos. 2) La deficiencia en p27 reduce el grado de lesión en el DNA celular e incrementó la muerte celular en los hepatocitos tratados con AFB1. 3) La reducción del índice proliferativo por sobreexpresión de p27 se asoció con una acumulación del daño en el DNA en células HepG2 con AFB1. 4) La expresión de p27 en HCC se asoció con mayor desdiferenciación del tumor.

LOS ANTIDIABÉTICOS ORALES PIOGLITAZONA Y ROSIGLITAZONA INHIBEN LA PRODUCCIÓN ENDÓGENA DE GLUCOSA POR EL HÍGADO MEDIANTE EFECTO INHIBITORIO DIRECTO SOBRE LA ENZIMA GLUCONEOGENICA GLUCOSA-6-FOSFATASA EN HEPATOCITOS DE RATA EN PERFUSIÓN

N. Sanz^a, C. Sánchez^a, D. Dettaille^a, G. R-Villanueva^a, J.M. Recio^b y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología, Universidad Salamanca.

^bDepartamento de Medicina, Universidad de Salamanca.

Introducción: La pioglitazona (PIO) y la rosiglitazona (ROSI) son fármacos antidiabéticos orales cuyos efectos hipoglucemiantes se producen, a medio y largo plazo, principalmente por activación de los receptores nucleares activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ). Estudios previos realizados por nuestro grupo demostraron que PIO y ROSI ejercen otros efectos antidiabéticos AGUDOS y DIRECTOS no mediados por PPAR γ , inhibiendo la gluconeogénesis (GNG) y activando la glucólisis en hepatocitos de rata en perfusión.

Objetivo: Usando la nueva técnica de perfusión de células, investigar el mecanismo por el cual PIO y ROSI inhiben de forma DIRECTA la GNG hepática.

Material y métodos: Los hepatocitos se aislaron a partir de hígados de ratas Wistar macho en ayunas 24 h y fueron perfundidos en presencia o ausencia de PIO (25 μ M) o de ROSI (25 μ M) utilizando la dihidroxiacetona (DHA), a distintas concentraciones como sustrato

energético. Se determinó en el perfusato la glucosa, el lactato y el piruvato mediante técnicas espectrofotométricas, y en las muestras celulares algunos intermediarios de la GNG/glucólisis como la dihidroxiacetona-fosfato (DHAP), la glucosa-6-fosfato (G6P) y la fructosa-6-fosfato (F6P) mediante técnicas espectrofluorimétricas. La actividad de la enzima glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa) en hepatocitos se midió en presencia y ausencia de 25 μ M de ROSI o de PIO mediante determinación colorimétrica del fosfato inorgánico liberado durante la hidrólisis de la G6P por la enzima G6Pasa.

Resultados: La PIO y la ROSI inhibieron significativamente la GNG hepática (J_{glc}) en un 40% y 65%, respectivamente. Además, la PIO y la ROSI disminuyeron los niveles de los intermediarios metabólicos intracelulares DHAP, G6P y F6P. Representando J_{glc} frente a DHAP, G6P y F6P, los resultados sugieren que la inhibición de la GNG hepática por PIO y ROSI se debe a una inhibición de la enzima gluconeogénica más importante: la G6Pasa. La medida de la actividad de G6Pasa en hepatocitos indican que tanto PIO como ROSI inhibieron, de forma directa, la velocidad máxima (V_{max}) de la enzima G6Pasa en un 31% y 27%, respectivamente, sin afectar de forma significativa a su constante de afinidad (Km).

Conclusión: Las glitazonas (PIO y ROSI) ejercen efectos hipoglucemiantes DIRECTOS Y AGUDOS a nivel del hígado mediante inhibición de la gluconeogénesis hepática. Esta inhibición se produce por disminución de la hidrólisis de glucosa-6-fosfato como consecuencia de un efecto inhibitorio directo de PIO y ROSI sobre la actividad de la enzima gluconeogénica hepática glucosa-6-fosfatasa.

DISFUNCIÓN COLESTÁTICA POSTRASPLANTE EN PACIENTES CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA FAMILIAR PROGRESIVA TIPO 2 (DEFICIENCIA EN BSEP): CORRELACIÓN CON LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-BSEP

L. Álvarez, P. Martínez, A. de la Vega, L. Hierro, C. Camarena, E. Frauca, G. Muñoz-Bartolo, A. González de Zarate, R. Batista, M. López Santamaría, M.C. Díaz y P. Jara
Unidad de Investigación, Hospital La Paz, Madrid. Servicio Hepatología y Trasplante. Hospital Infantil La Paz, Madrid.

La Colestasis Intrahepática Familiar Progresiva tipo 2 (CIFP-2) es una enfermedad autosómica recesiva asociada a mutaciones en *ABCB11*, que codifica la proteína canalicular de exportación de sales biliares (BSEP). El trasplante hepático es considerado un tratamiento efectivo. Algunos pacientes presentan episodios de disfunción colestática del injerto, con rasgos bioquímicos e histológicos que semejan la enfermedad original. Estos episodios son resueltos al aumentar la inmunosupresión. El conjunto de observaciones sugiere la posibilidad de un reconocimiento inmune de la proteína BSEP del donante.

Objetivos: Determinar si los episodios de disfunción del injerto que suceden en algunos niños afectados de CIFP-2 están relacionados con la formación de anticuerpos bloqueantes contra la proteína BSEP.

Métodos: La presencia de anticuerpos anti-canalículo biliar en suero se determinó mediante inmunofluorescencia indirecta sobre hígado de rata, utilizando un rango de diluciones 1:40 – 1: 3000. Los análisis por inmunotransferencia se realizaron con 30 μ g de proteínas de membrana de células Sf9 que expresan la BSEP humana; el suero de pacientes se utilizó a diluciones 1:100, 1:500 y 1:1000. Los ensayos de transporte de ácidos biliares se llevaron a cabo en vesículas de células Sf9 tranfectadas con la BSEP humana, en presencia o ausencia de 5mM de ATP y utilizando 2 μ M de [3 H]-ácido taurocólico.

Resultados: La presencia de anticuerpos anti-BSEP se analizó en suero de 6 niños trasplantados por deficiencia en BSEP, 3 de los cuales habían presentado episodios de disfunción colestática que remediaban CIFP-2 (ictericia y prurito en contraste con GGT normal; biopsia con transformación gigantomaligra). Como controles adicionales se utilizaron sueros de 2 niños trasplantados por Atresia Biliar. Por IFI se detectaron anticuerpos a título alto frente a una proteína canalicular solamente en los pacientes con disfunción del injerto. Ensayos de inmunotransferencia con proteínas de membra-

na de células de insecto Sf9 que expresan la BSEP humana demostraron que los anticuerpos reconocían la BSEP. La capacidad de estos anticuerpos para inhibir la funcionalidad de BSEP se analizó *in vitro*, mediante ensayos de transporte de ácidos biliares en vesículas de células Sf9 tranfectadas con la BSEP humana. En este sistema, la incorporación de ácido taurocólico dependiente de ATP fue de 20 pmol/mg/min. La preincubación con suero de los niños que no habían presentado episodios de disfunción del injerto (3 con CIFP-2 y 2 con atresia biliar) no modificó el transporte de sales biliares. Sin embargo, éste fue completamente abolido en presencia de 20 μ M de ciclosporina, o de los sueros de los 3 pacientes con CIFP-2 que presentaron disfunción colestática del injerto.

Conclusiones: En algunos pacientes sometidos a trasplante hepático por deficiencia de BSEP se generan anticuerpos bloqueantes contra la proteína del órgano donante que pueden reproducir la enfermedad original.

INFLUENCIA DE LA EDAD Y EL SEXO EN LA EXPRESIÓN CLÍNICA DE LA HEPATOTOXICIDAD IDIOSINCRÁSICA

R.J. Andrade^a, M.I. Lucena^b, Y. Borraz^b, E. Ulzurrun^b, G. Pelaez^c, J.A. Durán^d, M. Villar^d, L. Rodrigo^e, M. Romero-Gomez^f, A. Madrazo^f, R. Planas^g, S. Blanco^h, J.M. Navarroⁱ, A. Castiella^j, C. Guarner^k, F. Pons^l, F.J. Rodríguez-González^l, J. Salmerón^m, R. Martín-Vivaldiⁿ y M. Jiménezⁿ

^aServ. Hepatología y ^bFarmacología Clínica. H. Virgen de la Victoria, Málaga. ^cS Ap Digestivo. H. Torrecárdenas, Almería; ^dS Farmacología Clínica, H. Virgen de la Macarena, Sevilla; ^eS Ap Digestivo, H Central de Asturias, Oviedo; ^fS Ap Digestivo, H Valme, Sevilla; ^gS Ap Digestivo, H Germans Trias i Pujol, Barcelona; ^hS. Ap Digestivo, H Basurto, Vizcaya; ⁱS Ap Digestivo, H Costa del Sol, Málaga; ^jS Ap Digestivo, Mendaró Guipuzcuoa; ^kS Ap Digestivo, H. S Pau, Barcelona; ^lS Ap Digestivo, H. Marqués de Valdecilla, Santander; ^mS. Ap Digestivo, H. Clínico S Cecilio, Granada; ⁿS Ap Digestivo, H. Virgen de las Nieves, Granada; ^oS Ap Digestivo, H Carlos Haya, Málaga. en representación del Grupo de Trabajo de Hepatopatías Asociadas a Medicamentos (GEHAM).

El sexo femenino ha sido señalado como un factor de riesgo para el desarrollo de reacciones adversas incluidas las hepatotóxicas. De otra parte, aunque los fármacos tienden a producir reacciones hepatotóxicas idiosincrásicas con un patrón de expresión clínica relativamente constante, un mismo fármaco puede inducir lesión de forma variable incluyendo los tres patrones principales: hepatocelular, colestático y mixto.

Objetivo: Determinar los factores del huésped que podrían determinar la incidencia y contribuir a la expresión clínico-bioquímica de la hepatotoxicidad.

Pacientes y métodos: Se analizaron los casos de hepatotoxicidad remitidos al Registro español de hepatotoxicidad según protocolo estructurado de recogida de datos que contiene cuestiones pertinentes a la cronología de la reacción, variables demográficas y analíticas para establecer el patrón de lesión, exclusión de causas alternativas y factores de riesgo. Se revisaron los criterios de causalidad por expertos y aplicando la escala de CIOMS. Sólo casos definidos o probables fueron incluidos.

Resultados: 551 casos de hepatotoxicidad idiosincrásica (23% mostraron algunas de las características típicas de hipersensibilidad), remitidos entre abril 1994 y agosto 2007, fueron identificados. La incidencia de hepatotoxicidad por edad y sexo mostró una distribución similar entre hombres y mujeres hasta la edad de 60 años. Aunque el 55% de la serie global tenían \leq 55 años, la incidencia mayor de casos se produjo en la década 60-69 años (76 H/63 M), observándose a partir de este segmento de edad un predominio de incidencia en el sexo masculino (150 H vs 105 M; $p < 0,012$). El patrón hepatocelular fue predominante (55%) y se relacionaba inversamente con la edad. En los pacientes \geq 60 años predominó la expresión colestática de la hepatotoxicidad (62% vs 39%; $p < .0001$). La expresión colestática en los pacientes \geq 60 años fue 1,6 veces mas frecuente en hombres que en mujeres ($p < 0,001$). Estas asociaciones encontrada en la población general se mantuvieron en

la serie individual mas amplia de casos que era la de amoxicilina-clavulánico (n = 84).

Conclusiones: Contrariamente a la creencia general, en sujetos de edad avanzada la hepatotoxicidad idiosincrásica es mas frecuente en sujetos del sexo masculino. El perfil tipo de un paciente con edad igual o superior a 60 años con hepatotoxicidad idiosincrásica es el de un hombre con lesión hepática colestásica. El conocimiento de estas asociaciones es de gran importancia para el diagnóstico diferencial de hepatotoxicidad y el refinamiento de los métodos de asignación de causalidad.

EL HAPLOTIPO BAJO PRODUCTOR DE IL-10 PODRÍA SER UN MARCADOR DE EVOLUCIÓN DESFAVORABLE EN PACIENTES CON HEPATOTOXICIDAD IDIOSINCRÁSICA (DILI) NO INMUNOALERGICA

K. Pachkoria^a, M.I. Lucena^a, E. Crespo^b, F. Ruiz-Cabello^c, Y. Borraz^a, S. López-Ortega^d, M.C. Fernández^e, G. Peláez^e, M. Romero-Gómez^f, A. Madrazo^f, J.M. Navarro^g, J.A. Durán^h, A. Malcon de Dios^h, M. Villar^h y R.J. Andrade^d

^aServicio de Farmacología Clínica, ^dUnidad de Hepatología, H. Universitario Virgen de la Victoria, Facultad de Medicina, Málaga.

^bDepartamento de Farmacia, Universidad de Granada, ^cServicio de Inmunología, H. Virgen de las Nieves, Granada, ^eServicio de Farmacología Clínica y Ap Digestivo, H. Torrecárdenas, Almería;

^fServicio de Ap Digestivo, H Valme, Sevilla; ^gServicio de Ap Digestivo, H Costa del Sol, Marbella, Málaga; ^hServicio de Farmacología Clínica, H Virgen Macarena, Sevilla.

El balance entre citocinas inmunorreguladoras (IL-4, IL-10) y pro-inflamatorias (TNF- α) podría jugar un papel fundamental en la modulación de la respuesta del sistema inmune innato al efecto tóxico de los fármacos en el hígado siendo determinante en la aparición final de lesión.

Objetivos: Determinación de la influencia de los polimorfismos del gen promotor de IL-10, IL-4 y TNF- α en el desarrollo de hepatotoxicidad idiosincrásica y de sus características clínicas.

Métodos: Se determinó la frecuencia de tres polimorfismos localizados en el gen promotor de la IL-10(-1082 (G/A), -819 (C/T), -592 (C/A), IL-4 (-590 C/T)) Y TNF- α (308 (G/A)) en 140 pacientes de DILI y 268 controles mediante ensayo de discriminación alélica TaqMan 5'. Se clasificaron los individuos según haplotipos: altos productores (GCC/GCC), intermedios (GCC/ATA, GCC/ACC) y bajos (ATA/ATA, ACC/ACC, ATA/ACC) productores de la citocina IL-10.

Resultados: Se analizaron 140 pacientes. La edad media fue de 51 años (13-82 años) sin diferencias en la distribución por sexos. Las frecuencias alélicas, genotípicas para la IL-10, IL-4 y TNF- α no mostraron diferencias significativas entre los pacientes con DILI y los controles. Los pacientes con las variantes polimórficas para la IL-4, TNF- α y aquellos con alelos salvajes no mostraron diferencias con respecto al tipo de daño, presentación clínica y evolución del daño hepático. El análisis del genotipo de la IL-10(-1082) demostró la existencia de un desarrollo más temprano de la hepatotoxicidad en el caso de mujeres con el genotipo bajo productor de IL-10, ($p < 0,03$). El haplotipo bajo productor de IL-10 fue mas prevalente en los pacientes DILI con ausencia de eosinofilia [$P_c = 0,004$, OR = 5,29, 95% CI 2,04-13,67] y se asoció a un recuento mas bajo de eosinófilos en sangre periférica ($p < 0,0002$) comparado con el resto de haplotipos de IL-10. Los pacientes (10) que presentaron una evolución mas desfavorable (fallo hepático fulminante, trasplante hepático o muerte o daño grave con ictericia y actividad protrombina $< 50\%$) exhibían un haplotipo bajo productor de IL-10 y ausencia de eosinofilia. De la revisión de los 591 casos de hepatotoxicidad incluidos en el Registro Español en 36 casos (6%) tuvieron una evolución desfavorable y ninguno de ellos presentó eosinofilia.

Conclusión: Los polimorfismos de la IL-10, IL-4 y TNF- α no parecen estar asociados a la susceptibilidad de desarrollar hepatotoxicidad en pacientes españoles. La presencia del haplotipo bajo productor de la IL-10 podría favorecer una evolución grave del daño

hepático no inmunoalérgico y junto con la ausencia de eosinofilia periférica ser marcadores de evolución desfavorable.

LA OBESIDAD PREDISPONE AL DAÑO HEPATOCELULAR INDUCIDO POR EL TABACO EN RATAS

L. Azzalini¹, L.N. Ramalho², E. Ferrer³, M. Moreno¹, R. Casamitjana⁴, J. Colmenero¹, M. Domínguez¹, V. Peinado³, A. Barberà³, V. Arroyo¹, J. Caballería¹, P. Ginès¹ y R. Bataller¹

¹Centro de Investigación Biomédica En Red (CIBER) de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Institut D'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Centro de Investigación Biomédica Esther Koplowitz (CIBEK), y Servicio de Hepatología, Hospital Clínic, Barcelona; ²Departamento de Anatomía Patológica, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil; ³CIBER de Enfermedades Respiratorias, IDIBAPS y Servicio de Neumología, Hospital Clínic, Barcelona; ⁴Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínic, Barcelona.

Introducción y objetivo: El consumo de tabaco se asocia a fenómenos inflamatorios y pro-oxidantes sistémicos, favoreciendo el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Existe poca información sobre los efectos del tabaco en el hígado. La obesidad es una condición pro-inflamatoria que se asocia con frecuencia a daño hepatocelular. El presente trabajo investiga los efectos del tabaco sobre el hígado en ratas control y en ratas obesas.

Métodos: Se estudió ratas con deficiencia natural del receptor de la leptina, que tienen un fenotipo obeso (Zucker, fa/fa, n = 24). Como controles se utilizó ratas fa/+ (n = 24). Cada grupo fue dividido en dos sub-grupos: ratas fumadoras y no fumadoras. Las ratas fumadoras fueron expuestas al humo de 2 cigarrillos/día, 5 días/semana, durante 4 semanas. Se realizó determinaciones séricas de transaminasas, perfil lipídico, insulina y glucosa. El daño hepático se evaluó mediante cuantificación de la lesión necroinflamatoria. La infiltración de células inflamatorias se realizó mediante cuantificación morfométrica asistida por ordenador (programa AnalySIS) de células CD43+. Asimismo se cuantificó morfométricamente la actividad del factor de transcripción NF κ B (tinción de la subunidad p65), fibrosis (Sirius Red), apoptosis hepatocelular (TUNEL) y estrés oxidativo (tinción de 4-hidroxinonenal). La expresión hepática de genes pro-inflamatorios (ICAM-1, IL-6), pro-fibrogénicos (procolágeno 1 α 2, TGF β 1, TIMP-1) y pro-angiogénicos (VEGF-A) fue evaluada por PCR en tiempo real.

Resultados: El tabaco aumentó el nivel sérico de ALT en ratas obesas (170 ± 13 UI/L vs 130 ± 36 UI/L en ratas fumadoras y no fumadoras, $p < 0,01$) pero no en ratas controles (88 ± 6 UI/L vs 94 ± 10 UI/L en ratas fumadoras y no fumadoras, $p = ns$). El tabaco no indujo cambios en el perfil lipídico ni glucídico ni en ratas obesas ni en controles. El tabaco aumentó el índice histológico de daño hepatocelular en ratas obesas y en menor grado en ratas control. El tabaco no indujo un aumento de inflamación o fibrosis hepática en ninguno de los grupos. Sin embargo, el tabaco indujo estrés oxidativo, activación del factor nuclear NF κ B y apoptosis hepatocitaria en ratas obesas, pero no en controles. Finalmente, el tabaco indujo un aumento en la expresión de TIMP-1 y procolágeno 1 α 2 en ratas obesas.

Conclusiones: La obesidad sensibiliza a las ratas a los efectos pro-oxidantes y hepatotóxicos del tabaco en el hígado. Futuros estudios deben explorar si este hallazgo también se produce en humanos.

EL RETARDO EN LA REGENERACIÓN TRAS HEPATECTOMÍA PARCIAL DE RATONES E2F2-/- SE ASOCIA A UNA HEPATOESTEATOSIS SOSTENIDA

I. Delgado^a, O. Fresneda^a, A. Zubiaga^b y B. Ochoa^a

^aDepartamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco (UPV-EHU). ^bDepartamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV-EHU).

Los factores de transcripción E2F son proteínas implicadas en la regulación del ciclo celular que pueden actuar como activadores y como inhibidores de la actividad transcripcional. El factor E2F2 es

uno de los integrantes de esta familia y clásicamente ha sido catalogado dentro del subgrupo de E2F activadores de la transcripción. Entre los genes diana de E2F se encuentran, entre otros, genes esenciales en el proceso de replicación del DNA, por lo que juega un papel clave en la transición G₁/S del ciclo celular. La regeneración hepática, paradigma de la proliferación, es un modelo muy utilizado para el estudio de factores relacionados con el ciclo celular, ya que se trata de un fenómeno no patológico en el cual las células del hígado abandonan el estado quiescente y comienzan a proliferar para compensar la pérdida física y funcional de masa hepática. Con el fin de estudiar el papel de E2F2 en la homeostasis hepática se han sometido a ratones salvajes (WT) y *knockout* para el gen E2F2 (E2F2^{-/-}) a hepatectomías parciales del 70%, de forma que sea posible analizar la progresión de la regeneración hepática en ratones de ambos genotipos y observar el efecto de la carencia de E2F2 en el mismo. Para ello se han analizado la evolución de los niveles de glucemia e índice hepático y las características histológicas de ratones de ambos genotipos a lo largo de una semana de proceso regenerativo. La carencia de E2F2 provoca un retraso de la regeneración a partir de las 48 h de regeneración. El índice hepático característico de la cepa de ratón empleada (4%) se alcanza al cabo de 96 h en los ratones WT, en tanto que en los E2F2^{-/-} la recuperación no culmina hasta las 168 h. La esteatosis transitoria característica de la regeneración se desarrolla de igual modo en ratones WT y E2F2^{-/-}, observándose una esteatosis microvesicular de grado 3 y masiva con algunas fases muy intensas en ambos casos. Sin embargo, la reversión de la hepatosteatois mostrada por los ratones E2F2^{-/-} se retrasa con respecto a la mostrada por los WT. Las diferencias histológicas son sumamente llamativas tras 96 horas de regeneración, coincidiendo con la diferencia máxima observada en el proceso regenerativo. Así, mientras que el hígado de los ratones WT no muestra signos de esteatosis, el de los ratones E2F2^{-/-} aún presenta una esteatosis hepática masiva de grado 3. El hecho de que el ratón deficiente en E2F2 presente una excesiva acumulación de lípidos en fases tardías de la regeneración asociada al retraso global del proceso regenerativo pone de manifiesto la estrecha relación entre el desarrollo de la esteatosis y la progresión de la regeneración hepática.

LA DEFICIENCIA EN LOS RECEPTORES 1 Y 2 DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL Y LA AUSENCIA DE ESFINGOMIELINASA ÁCIDA PREVIENEN EL HIGADO GRASO Y DAÑO HEPÁTICO PROVOCADO POR ALCOHOL

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

Unidad de Hepatología, Instituto Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial, CIBEREHD, IDIBAPS, Instituto Investigaciones Biomédicas de Barcelona, CSIC.

El TNF es una citoquina que provoca inflamación, proliferación y muerte celular. El TNF se une a dos receptores de membrana, el receptor 1 (TNFR1) y el receptor 2 (TNFR2). En estudios donde se usa terapia anti-TNF y ratones deficientes en TNFR1, se ha observado un papel clave del TNF en la enfermedad hepática alcohólica (EHA). Sin embargo, datos recientes en ratones TNFR1^{-/-} han sugerido un papel minoritario del TNF en el desarrollo del hígado graso y daño hepatocelular tanto en un modelo intragástrico de EHA como de esteatohepatitis no alcohólica. No obstante, ratones deficientes en TNFR1 muestran una resistencia a la sensibilización por el consumo de alcohol al daño hepatocelular inducido por la activación de células T (NKT). Por otro lado, la esfingomielinasa ácida (ASMasa) juega un papel importante en la muerte inducida por el TNF (J. Clin. Invest 2003; 2004; Cell Metab 2006). Puesto que en ausencia de TNFR1, la señalización del TNF transcurre vía TNFR2, y que el papel de la ASMasa en la EHA no se ha determinado, el objetivo del presente estudio fue examinar la contribución de TNFR1/TNFR2 y de la ASMasa en la EHA.

Métodos: Ratones machos C57BL/6 de 8 semanas deficientes en TNFR1/TNFR2 o ASMasa fueron tratados con una dieta Lieber-DeCarli conteniendo el 36% de calorías en forma de alcohol durante 4-6 semanas. Se examinó el perfil lipídico hepático (triglicéridos, TG, ácidos grasos libres, AGL, colesterol, CH y esfingomielina,

ES), el nivel de homocisteína, así como la susceptibilidad e inflamación en respuesta al LPS y concanavalina A (conA), mediante H&E y niveles de transaminasas en suero.

Resultados: El consumo de alcohol indujo un incremento en los niveles de TG, AGL y CH en ratones salvajes, pero no así en los deficientes en TNFR1/TNFR2. Tras exposición al LPS se observó un incremento del daño hepatocelular (AST/ALT), así como los focos de necroinflamación en los ratones salvajes, que no se produjeron en los TNFR1/TNFR2^{-/-}. Curiosamente, los ratones ASMasa^{-/-} mostraron un hígado graso, caracterizado fundamentalmente por el incremento de ES, con menos contribución del depósito de TG, AGL y CH. Sin embargo, el consumo de alcohol no resultó en un incremento adicional en estos parámetros. Por otra parte, dichos ratones fueron resistentes al tratamiento con LPS con ausencia de focos inflamatorios y hepatocelular con respecto a los ratones salvajes. Además, mientras que los ratones TNFR1/TNFR2^{-/-} fueron resistentes a la acción citotóxica de la conA, los ratones ASMasa^{-/-} mostraron la misma sensibilidad a la conA que los ratones salvajes. Finalmente, el consumo de alcohol aumentó el nivel de homocisteína hepática en los ratones ASMasa^{-/-} pero no en los TNFR1/TNFR2^{-/-}.

Conclusión: Estos resultados apoyan la hipótesis de que el TNF juega un papel en el hígado graso y inflamación/necrosis en la EHA y que la ASMasa podría ser un nuevo blanco terapéutico en esta enfermedad.

LA DEFICIENCIA DE LA METIONINA REPRODUCE EL DAÑO NECROINFLAMATORIO OBSERVADO EN UN MODELO NUTRICIONAL DE ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA

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

Unidad de hígado, Hospital Clínico y Provincial, CIBEREHD-IDIBAPS, IIBB-CSIC, Universidad de Barcelona.

La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es un estadio intermedio en la enfermedad del hígado graso, caracterizado por la acumulación inicial de grasa en el hepatocito que puede progresar a estados más avanzados con inflamación, estrés oxidativo, y muerte hepatocelular, y que puede culminar en la cirrosis y el carcinoma hepático. Existen múltiples modelos experimentales de EHNA, aunque ninguno reproduce exactamente el curso natural y la etiología de la enfermedad en humanos. La dieta deficiente en metionina y colina (MCD) es uno de los modelos nutricionales más utilizados en el estudio de la EHNA y se caracteriza por producir esteatosis, inflamación, estrés oxidativo y muerte hepatocelular. La metionina es un aminoácido esencial que juega un papel importante en muchas funciones celulares como la síntesis y metilación de proteínas y DNA, así como intermediario de la síntesis de S-adenosilmetionina (SAM) y de glutatión (GSH), dos moléculas importantes en la homeostasis celular. El objetivo del estudio es investigar la contribución individual de la metionina y de la colina en el daño hepático causado por la dieta MCD en ratones.

Métodos: Ratones C57/BL6 de 8 semanas se alimentaron con dieta deficiente en metionina (MD), colina (CD), o en ambos metionina y colina (MCD) durante 1, 7 y 15 días. En tejido hepático se analizó el nivel de SAM y SAH, GSH en citosol y mitocondria, el perfil lipídico (triglicéridos, TG, ácidos grasos libres AGL y colesterol, CH) y grado de esteatosis, así como la lesión tisular por H&E e inflamación por mieloperoxidasa.

Resultados: Los ratones alimentados con dieta MCD y MD perdieron peso al cabo de 2 días, pero no así los tratados con dieta CD. Mientras que el grado de esteatosis macrovesicular y nivel de TG y AGL fue similar en los ratones tratados con las dietas MCD o CD, el daño hepatocelular determinado por AST/ALT, focos de necrosis e inflamación (tinción con mieloperoxidasa) tras 7 días de tratamiento se produjo en los animales tratados con MCD o MD. Los niveles de GSH (citosol y mitocondrial) y el de SAM disminuyeron desde el primer día de alimentación con MD y MCD. Asimismo, las dietas MCD y MD indujeron un incremento en el nivel de S-adenosilhomocisteína resultando en una disminución del cociente SAM/SAH, no observado en animales tratados con CD.

Conclusión: Estos datos indican un papel diferencial de la metionina y colina en EHNA. Mientras que la colina regula el hígado graso, la metionina es fundamental en el desarrollo de la inflamación y

daño celular debido a una disminución temprana del nivel de GSH mitocondrial. Dichos resultados apoyan estudios recientes en los que la progresión de esteatosis a esteatohepatitis es independiente de la cantidad de grasa.

IMPLICACIÓN DE LAS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN MAPK Y LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN AP-1 Y NF-KAPPAB EN UN MODELO ANIMAL DE FALLO HEPÁTICO FULMINANTE

R. García-Lastra^b, B. San-Miguel^a, F. Jorquera^c, M. Álvarez^b, J. González-Gallego^a y M.J. Tuñón^a

^aCiberehd. Instituto de Biomedicina, Universidad de León.

^bDepartamento de Sanidad Animal, Universidad de León. ^cServicio de Digestivo, Hospital de León.

El virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (VRHD) es un miembro de la familia *Caliciviridae* que causa en estos animales una enfermedad aguda mortal que cumple los criterios para ser considerado un adecuado modelo animal de fallo hepático fulminante (FHF). En estudios previos hemos indicado la importancia que juegan las vías apoptóticas en dicho modelo animal. AP-1 y NF-κB son factores de transcripción nuclear involucrados en procesos tales como la respuesta inflamatoria y la apoptosis y son en parte regulados por las proteínas-quinasas activadas por mitógenos (MAPK) JNK-1 y ERK1/2 y p38, respectivamente. Se ha indicado que estas vías de señalización tienen efectos opuestos sobre la regulación de la apoptosis, señalando que JNK1 y p38 son mediadoras de la muerte celular, mientras que ERK1/2 promueve la supervivencia.

Objetivo: Determinar el papel de las principales vías de MAPK, JNK1, p38 y ERK1/2 y de los factores de transcripción AP-1 y NF-κB en un modelo animal de FHF.

Métodos: Se utilizaron 20 conejos de 9 semanas a los que se inyectó i.m. 2×10^4 unidades hemoaglutinantes del VRHD (aislado Ast/89). Los animales fueron sacrificados a las 12, 24, 36 y 48 horas de la infección (hpi). Se determinó la expresión de las MAPK (western blot), la activación de los factores de transcripción (EMSA) y la expresión de caspasa-3 por inmunohistoquímica.

Resultados: El VRHD induce la activación de las MAPK en distintos periodos y con distinta intensidad. Así, p38 se activa a las 12 hpi, se mantiene activado hasta las 24 hpi, pero disminuye su activación a las 36 hpi alcanzando valores control a las 48 hpi. JNK-1 se activa a las 12 hpi (+114% vs control) y se mantiene con máxima activación desde las 24 hpi prácticamente hasta la muerte de los animales por FHF a las 48 hpi (+250% frente a control). Aunque ERK1/2 presenta dos picos de activación, uno de mayor entidad a las 12 hpi (+200%) y otro de menor intensidad a las 36 hpi (+150%) a las 48 hpi su actividad desaparece por completo coincidiendo con la mayor expresión de la caspasa-3 y la muerte de los animales por FHF a las 48 hpi. Además, se produce una activación de los factores de transcripción AP-1 y NF-κB que alcanza sus máximos valores entre las 36 y las 48 hpi.

Conclusión: En el FHF inducido por el VRHD se produce una prolongada activación de JNK-1 que precede a la activación de AP-1 y NF-κB, todo ello junto con la falta de expresión de ERK en el periodo final del FHF parecen jugar un papel clave en la regulación de la muerte celular en el FHF. Estas vías de señalización celular podrían constituir dianas terapéuticas importantes para intentar frenar o al menos retrasar la muerte por FHF.

Financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria

EFFECTO DE LOS FLAVONOIDES QUERCITINA Y KAEMPFEROL SOBRE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE COX-2 Y DE LA PROTEÍNA C REACTIVA EN UN MODELO DE INFLAMACIÓN IN VITRO EN HEPATOCITOS HUMANOS

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

Ciberehd. Instituto de Biomedicina, Universidad de León.

Los flavonoides están considerados como sustancias bioactivas no tóxicas y se les atribuyen una serie de efectos biológicos entre los que cabe destacar su actividad en la prevención de enfermedades

coronarias, en el cáncer, en desórdenes gastrointestinales y en aquellos procesos que cursan con inflamación.

Objetivos: Evaluar, en un modelo de inflamación *in vitro*, la capacidad de los flavonoides quercitina y kaempferol para modular la expresión génica de la enzima ciclooxigenasa (COX-2) y de la proteína C reactiva (CRP) e inducir cambios en la ruta de señalización del factor nuclear NFκB.

Métodología: Para la realización del estudio se ha utilizado una línea celular derivada de hepatocitos humanos (Chang liver) tratada durante 24 horas con citoquinas proinflamatorias en presencia o ausencia de distintas concentraciones de quercitina (Q) o kaempferol (K), (5-200 mM). La expresión génica de la enzima COX-2 y de la CRP se determinó mediante PCR cuantitativa a tiempo real y western blot. Asimismo se determinó la traslocación nuclear del factor NFκB (EMSA) y la concentración de su proteína inhibidora IκBα en su forma fosforilada y de la enzima IKKα (western blot).

Resultados: El tratamiento con ambos flavonoides provocó una disminución de la expresión génica tanto de la enzima COX-2 como de la proteína de respuesta aguda CRP, cuya expresión se encontraba incrementada como consecuencia del tratamiento con la mezcla de citoquinas proinflamatorias. En el caso del kaempferol dicha disminución se produce de manera dosis-dependiente (COX-2: ARNm: -92%; proteína: -95%; CRP: ARNm: -92%; proteína: -92%), mientras que para la quercitina la mayor inhibición de la expresión génica de COX-2 y CRP tuvo lugar con las dosis intermedias del flavonoide (COX-2: ARNm: -70%; proteína: -87%; CRP: ARNm: -83%; proteína: -82%). En cuanto a la activación del factor nuclear NFκB, ambos flavonoides ejercen un efecto inhibidor dosis dependiente, tanto sobre su traslocación nuclear (Q: -75%; K: -95%) como sobre la concentración de la proteína del inhibidor IκBα fosforilado y de la enzima IKKα ($K_{I\kappa B\alpha-P}$: -75%; $K_{I\kappa B\alpha-P}$: -97%; $Q_{I\kappa B\alpha-P}$: -80%; $K_{IKK\alpha}$: -90%).

Conclusiones: El presente estudio sugiere que la modulación ejercida por la quercitina y el kaempferol sobre la expresión de la enzima proinflamatoria COX-2 y la proteína de respuesta aguda CRP puede contribuir a los efectos antiinflamatorios de dichos flavonoides, posiblemente mediante mecanismos involucrados en la activación del NFκB. Las pequeñas diferencias estructurales existentes entre ambos flavonoides podrían ser las responsables de la capacidad inhibitoria distinta observada para la quercitina y el kaempferol.

**Financiado por el Plan Nacional I+D.*

DIFERENCIACIÓN IN VITRO DE CÉLULAS CD34+ DE SANGRE PERIFÉRICA DE PACIENTES SOMETIDOS A AFÉRESIS HACIA HEPATOCITOS

J.R. Muñoz-Castañeda^a, C. Herencia^a, F. Calahorra^a, C. Herrera^b, E. Muñoz^c, E. Vicente^c, L. León^c, I. Espejo^d, E. Fraga^a, M. de la Mata^a y J. Muntané^a

^aLiver Research Unit, ^bHematología, ^cCirugía, y ^dAnálisis Clínicos, Hospital Reina Sofía, ciberehd, Córdoba.

Introducción: Pacientes tratados con G-CSF y sometidos a aféresis muestran en sangre periférica un incremento del número de células CD34+ con características de célula madre.

Objetivos: Diferenciar células CD34+ de sangre periférica de pacientes sometidos a aféresis hacia hepatocitos mediante citoquinas.

Métodos: Se seleccionaron células CD34+ mediante separación inmunomagnética con pureza superior al 95%. Para estimular la expansión inicial de las células CD34+ aisladas se administraron factor stem cell, trombopoyetina y Flt3-ligando durante 6 días. La diferenciación se realizó con distintas combinaciones de HGF, EGF, FGF-beta, FGF-alfa, OSM y FGF-7. Las células se cultivaron en medio IMDM durante 28 días. Se analizó el contenido de proteínas hepatoespecíficas secretadas al medio de cultivo y la expresión por RT-PCR de diversas proteínas hepatoespecíficas.

Resultados: Las células CD34+ co-expresan marcadores stem cell como CD133, CD90, CD177 y CD184. SCF, TPO y Flt3-ligando incrementaron la población celular en 2.6 veces. Las citoquinas indujeron un cambio morfológico de pequeñas y esféricas a grandes y poligonales. El análisis del sobrenadante contenía pre-albúmina, ce-

uloplasmina o alfa-1-antitripsina, y las células expresaban albúmina, alfa-1-antitripsina, CYP3A4 y C/EBP. La combinación HGF, OSM y FGF-7 genera un estado más próximo al de hepatocitos.

Conclusión: Las células CD34+ de sangre periférica tienen propiedades de célula madre. HGF, OSM y FGF-7 inducen su diferenciación hacia un estadio de diferenciación próximo a hepatocitos funcionales.

LA PROTEÍNA X (HBX) DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) ALTERA LA COMPOSICIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR POR MEDIO DE LA MODULACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS (CEHS) Y DE LA ACTIVIDAD METALOPROTEASA MMP-2

Y. Rodríguez-Muñoz^a, S. Martín-Vílchez^a, P. Sanz-Cameno^a, M. López-Cabrera^b, R. Moreno-Otero^a y E. Lara-Pezzi^b

^aUnidad de Hepatología, Ciberehd, Hospital Universitario "La Princesa". ^bUnidad de Biología Molecular, Hospital Universitario "La Princesa".

Introducción: El VHB es uno de los principales agentes causales del hepatocarcinoma. La implicación de HBx en este caso se conoce ampliamente, pero su papel en la fibrosis está por esclarecer. En la fibrosis hepática existe una acumulación excesiva de matriz extracelular (ME) debido a una alteración del equilibrio síntesis-degradación de proteínas de ME. En este equilibrio juegan un papel esencial tanto las CEHS, como las metaloproteasas, responsables de la degradación de ME y, por tanto, de la remodelación tisular y de los fenómenos inflamatorios asociados a la fibrosis.

Objetivo: Comprobar si HBx está implicado en la alteración del equilibrio síntesis-degradación de ME, mediante el estudio de su efecto sobre CEHS y la actividad metaloproteasa.

Métodos: Las CEH fueron incubadas con medios procedentes de las líneas hepatocitarias: CMX obtenida por transfección estable de Chang-Liver (CHL) con HBx; HepG2 y 2.2.15, generada a partir de la anterior, que posee 2 copias del genoma de VHB. Tras 24h, las CEHS fueron recogidas para su estudio. Como marcador de activación característico de CEHS, se analizó la expresión de alfa-SMA mediante inmunofluorescencia y Western Blot, además de estudiar la actividad metaloproteasa de la Gelatinasa A (MMP-2) mediante zimografía. Los ensayos de proliferación se realizaron en presencia y ausencia de TIMP2 (*Cell Growth determination Kit*, Sigma).

Resultados: Hay un aumento destacado en la expresión de alfa-SMA y MMP-2 en CEHS incubadas con medios condicionados por las líneas hepáticas que expresan HBx, con respecto a las incubadas con medios control. Las CEHS expuestas a medios que contienen la proteína viral experimentan una tasa de proliferación mayor que las incubadas con medios procedentes de las líneas HepG2 y CHL; sorprendentemente la capacidad de expansión de CEHS se ve inhibida cuando se hallan en presencia del TIMP2 en todos los casos.

Conclusión: HBx juega un papel en la fibrosis hepática de manera directa, a través de su acción sobre las células estrelladas, como de forma indirecta, contribuyendo a la desregulación del equilibrio síntesis-degradación de proteínas de ME. Esto se refleja en su efecto sobre la actividad MMP-2 y de su inhibidor TIMP-2. Los experimentos de proliferación con TIMP-2, ponen de relieve la importancia del equilibrio MMP-2-TIMP2 en la composición de la ME no sólo por su actividad enzimática, sino también por su capacidad de modular la proliferación de CEH.

LA ACTIVACIÓN SELECTIVA DE GENES PROTECTORES DEPENDIENTES DE NF- κ B POR S-ADENOSILMETIONINA PROTEGE FRENTE AL DAÑO HEPÁTICO POR ISQUEMIA/REPERFUSIÓN

L. Llacuna, J.M. Lluís, J.C. Fernández-Checa y A. Morales
Unidad de Hepatología, Instituto Malalties Digestives, Hospital Clinic I Provincial, CIBEREHD, IDIBAPS, Instituto Investigaciones Biomédicas de Barcelona, CSIC.

La activación de genes NF- κ B dependientes juega un papel destacado en el daño hepático por isquemia/reperfusión debido a su partici-

pación tanto en mecanismos de protección del hepatocito (MnSOD) como de activación de citoquinas inflamatorias (TNF, IL-1) en las células de Kupffer. La activación de NF- κ B es sensible al estado redox celular, siendo regulado por el nivel de radicales libres y de antioxidantes como el glutatión (GSH). La S-adenosilmetionina (SAM) aumenta de forma específica los niveles de GSH en el hepatocito a través de la ruta de transulfuración, ausente en células no parenquimales.

Objetivo: La activación selectiva de mecanismos de protección dependientes de NF- κ B por SAM en isquemia/reperfusión hepática.

Métodos: Modelo de isquemia parcial en ratón (70% del hígado). Daño hepático medido por ALAT/ASAT en suero, H&E y TUNEL de muestras de hígado a diferentes tiempos de reperfusión. Determinación espectrofotométrica de estrés oxidativo hepático mediante MDA (peroxidación lipídica) y niveles de GSH por HPLC. Niveles de MnSOD medidos por RealTime-PCR y western blot. Niveles de TNF por ELISA.

Resultados: La activación de NF- κ B aumenta con el tiempo de isquemia hasta su máximo hacia los 60 minutos, disminuyendo tras isquemias mas largas, mientras la producción de radicales libres aumenta de forma directa con la duración de la isquemia. En paralelo, tras isquemias largas (superiores a 60 minutos), la activación de proteínas dependientes de NF- κ B como MnSOD disminuye. La administración de SAM en ratón reduce los radicales libres generados durante la isquemia e incrementa los niveles de NF- κ B hepáticos y de MnSOD, sin alterar los niveles de citoquinas inflamatorias NF- κ B dependientes. En contraste, BSO, inhibidor del gamma-glutamylcisteinil sintasa (γ -GCS), enzima reguladora de la síntesis de GSH, aumenta la generación de ROS tras la isquemia, disminuyendo los niveles nucleares de NF- κ B y la síntesis de MnSOD. Como consecuencia de ello, el tratamiento con SAM protege el hígado frente a la isquemia/reperfusión, mientras que BSO aumenta el daño hepático.

Resumen: La reducción selectiva de los radicales libres en el hepatocito tras isquemia/reperfusión mediante la administración de SAM permite aumentar la activación de genes protectores dependientes de NF- κ B y disminuir el daño hepático.

INMUNOFERÓN (IF-S) INHIBE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) PROMOVRIENDO LA LIBERACIÓN DE FACTORES SOLUBLES DE CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA (CMSP)

S. Martín-Vílchez^a, Y. Rodríguez-Muñoz^a, P. Sanz Cameno^a, F. Molina-Jiménez^b, J.L. Alonso^c, S. González^d, M. López-Cabrera^b, R. Moreno-Otero^a y P. Majano^b

^aUnidad de Hepatología, Hospital Universitario de la Princesa, CIBEREHD, Madrid, ^bUnidad de Biología Molecular, Hospital Universitario de la Princesa, CIBEREHD, Madrid ^cMemorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, USA. ^dDepartamento de I+D, Industrial Farmacéutica Cantabria S.A, Madrid, Spain.

Introducción: IF-S es un fármaco cuyo principio activo es un glicoconjugado compuesto por el polisacárido de *Candida utilis* y una proteína obtenida de semillas no germinadas de *Ricinus communis*. Su principio activo es capaz de ejercer una acción inmunomoduladora sobre células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y la expresión de citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la interleuquina-1 (IL-1).

Objetivo: Determinar la actividad antiviral de IF-S *in vitro* frente al virus de la hepatitis C (VHC).

Material y métodos: IF-S se obtuvo según la patente P9900408 y PCT/E99/00338. El polisacárido y la proteína se usaron en una proporción 5:1. Cultivos celulares: Se emplearon dos replicones, generados a partir de la línea celular derivada de un hematoma humano Huh-7, conteniendo el genoma completo del VHC. Los CMSP se obtuvieron a partir de donantes sanos mediante gradiente de densidad de Ficoll. Se cultivaron a una densidad de 10^6 cels/ml y tras 24h en cultivo fueron estimuladas o no con IF-S a $1 \mu\text{g/ml}$ durante 48 o 96h. Los replicones fueron incubados con los sobrenadantes condicionados de CMSP estimuladas o no con IF-S. Además estas células se incubaron directamente con IF-S a diferentes concentraciones.

nes. El efecto de IF-S sobre líneas celulares conteniendo un replicón genómico del VHC se determinó analizando los niveles de ARN viral mediante PCR cuantitativa y las proteínas Core y NS5A mediante Western Blot.

Resultados: A pesar de no ejercer una actividad antiviral directa, en los replicones del VHC cultivados con medios procedentes de CMSP estimulados con IF-S se observó una disminución tanto de los niveles de ARN como de proteína en comparación con aquellos incubados con medios de CMSP no estimulados.

Conclusión: En este estudio demostramos que IF-S es capaz de inhibir de manera indirecta la replicación de VHC, a través de su capacidad para inducir la secreción de factores solubles en CMSP.

EFFECTO DE CARDIOTROFINA-1 SOBRE HÍGADOS SUBÓPTIMOS EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO ORTOTÓPICO PORCINO

F. Calahorra, C. Herencia^a, J. Briceño^b, A. Luque^b, A. Naranjo^b, I. Espejo^c, I.C. Rodríguez^a, M.C. Perez-Manrique^b, M.M. Granados^d, R. Navarrete^d, J. Morgaz^d, M. Iñiguez^c, M. Bustos^c, R. Gomez-Villamandos^d, A. Poyato^a, J. Ruiz^c, J. Prieto^c, M. De la Mata^a, P. López-Cillero^b, J. Muntané^a y J.R. Muñoz-Castañeda^a

^aLiver Research Unit, ^bDepartamento de Cirugía, y Servicio Análisis Clínicos, Hospital Reina Sofía, ciberehd, Córdoba. ^cHospital Clínico Veterinario, Universidad de Córdoba, Córdoba. ^dCIMA, Universidad de Navarra, Pamplona.

Introducción: La presencia de esteatosis hepática limita el uso de un amplio número de hígados para el trasplante hepático. La cardiotrofina-1 (CT-1) es una citoquina con importante actividad anti-apoptótica en la lesión hepatocelular. El objetivo del estudio es evaluar si CT-1 posee efectos beneficiosos en la disfunción primaria del injerto sub-óptimo en el trasplante hepático experimental.

Material y métodos: Se realizaron 15 trasplantes hepáticos en cerdos mini-pigs (10-15 kg) utilizando hígados subóptimos por administración de tioacetamida. Se administraron diversas pautas de administración de CT-1 (300 µg/Kg p.c.) en donante o receptor. Se tomaron muestras de sangre (0-24 h) y muestras hepáticas en el cerdo donante y receptor a tiempo 0, en la cirugía de banco y a la muerte del animal.

Resultados: El implante de un órgano sub-óptimo incrementó las transaminasas y redujo la supervivencia a 12 ± 6.3 h. La administración de CT-1 redujo los niveles de transaminasas e incrementó la supervivencia hasta las 21 ± 7.7 h. Los mejores resultados se obtuvieron con la administración en bolo de CT-1 en el donante. La CT-1 disminuye la severidad de la lesión histológica y mejora la arquitectura del lobulillo hepático.

Conclusiones: La CT-1 aumenta la supervivencia tras el trasplante de un hígado subóptimo, disminuyendo las transaminasas y la lesión histológica en el lobulillo hepático. Estas premisas sugieren el potencial uso de la CT-1 como agente citoprotector que permite la recuperación de un amplio número de órganos subóptimos para el trasplante hepático.

GAS6 PARTICIPA EN LA PROTECCIÓN HEPÁTICA FRENTE A ISQUEMIA/REPERFUSIÓN A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DE AKT

L. Llacuna, D. Bellido, P. García de Frutos, J.C. Fernández-Checa y A. Morales

Unidad de Hepatología, Instituto Malalties Digestives, Hospital Clinic i Provincial, CIBEREHD, IDIBAPS, Instituto Investigaciones Biomédicas de Barcelona, CSIC.

Gas6 (growth arrest-specific gene 6), proteína dependiente de vitamina K, es ligando de la familia de receptores tirosin quinasa Tyro3/Axl/Mer. Esta ruta de señalización activada por Gas6 esta involucrada en procesos de supervivencia y reparación tisular. Recientemente, Gas6 ha sido propuesto como hepatoprotector frente al daño causado por CCl₄ y en regeneración hepática tras hepatectomía.

Objetivo: Análisis de la participación de Gas6 en la isquemia-reperfusión hepática y sus mecanismos de acción.

Métodos: Modelo de isquemia parcial (70% del hígado) en ratones C57BL/6 y en deficientes en Gas6. Daño hepático medido por ALAT/ASAT en suero, H&E y TUNEL de muestras de hígado a diferentes tiempos de reperusión. Determinación de activación de rutas de supervivencia (AKT, NF-KB) y muerte celular (JNK) en muestras hepáticas post-isquemia mediante western blot, y su activación en hepatocitos en cultivo por exposición a Gas6 recombinante.

Resultados: Ratones deficientes en Gas6 presentan una elevada sensibilidad hepática al daño por isquemia/reperfusión. Mientras solo un 10% de los ratones salvajes mueren en las 24 horas siguientes a una isquemia de 90 minutos, esta tasa aumenta hasta el 80-90% en los ratones Gas6^{-/-}. Las biopsias hepáticas presentan un elevado daño hepatocelular en los ratones deficientes en Gas6, observado tanto en tinciones H&E como TUNEL, respecto a animales salvajes. La activación de AKT observada en animales salvajes ocurre tras 60 minutos de reperusión, disminuyendo significativamente en los animales deficientes en Gas6. Por su parte, Gas6 recombinante promueve la fosforilación de AKT en hepatocitos en cultivo, sugiriendo que esta ruta puede ser clave en su acción hepatoprotectora.

Conclusión: La sensibilización al daño hepático causado por isquemia/reperfusión observada en ratones deficientes en Gas6 parece ser causada por la insuficiente activación de la ruta de protección hepática dependiente de AKT.

ESTEATOSIS HEPÁTICA EN POBLACIÓN INFANTIL OBESA

E. Ubiña^a, J.M. Navarro^a, I. Méndez^a, A. Pérez^a, R. Rivera^a, N. Fernández^a, F. Rivas^b, E. Perea^b y L. Tapia^c

^aUnidad de Aparato Digestivo. ^bUnidad de Investigación. ^cUnidad de Pediatría. Hospital Costa del Sol. Marbella. Málaga.

Objetivos: 1) Prevalencia de esteatosis hepática en niños con obesidad. 2) Verificar si la esteatosis se asocia a determinadas variables sociodemográficas, medidas antropométricas y parámetros analíticos. 3) Analizar si la esteatosis se asocia a variables relacionadas con el síndrome metabólico y la resistencia insulínica

Metodología: Estudio transversal de 144 niños con obesidad entre 6-14 años. Se determinaron en suero los parámetros siguientes: transaminasas, TSH, ácido úrico y perfil lipídico. Se determinó insulinoresistencia (HOMA) e insulinosensibilidad (QUICKI) en un grupo de pacientes obesos. A todos los niños se le realizó una ecografía de abdomen

Resultados: La prevalencia de esteatosis fue de 34,7%, mostrando elevación de las transaminasas el 12%. Por sexos, la prevalencia fue del 40,5% en niños y del 26,7% en niñas ($p = 0,086$). No se encontraron diferencias al comparar por grupos de edad (6-9 años) (10-11 años) (12 años) (13-14 años) ($p = 0,828$). Al comparar el resto de variables entre los grupos de niños con y sin esteatosis, encontramos que los niños con esteatosis presentaron cifras más elevadas de BMI, perímetro de cintura y de cadera. En cuanto a los parámetros analíticos, existía una clara relación con triglicéridos, ALT, AST y ácido úrico; así como con la hiperinsulinemia, HOMA, QUICKI y síndrome metabólico. Tras realizarse un análisis de regresión logística multivariante encontramos que el índice HOMA y el nivel de ALT son los factores predictores de esteatosis hepática (OR: 1,261 y OR: 1,065)

Variables	Con esteatosis	Sin esteatosis	p-valor
BMI (kg/m ²)	30,70 ± 4,46	29,04 ± 3,81	0,021
P.cintura (cm)	94,91 ± 11,09	90,78 ± 9,55	0,021
P.cadera (cm)	102,56 ± 11,83	98,77 ± 10,69	0,053
AST (U/L)	25,71 ± 6,59	23,67 ± 5,08	0,042
ALT (U/L)	28,10 ± 18,78	20,59 ± 5,85	0,009
GGT (U/L)	17,12 ± 6,78	15,84 ± 5,46	0,224
Colesterol total (mg/dl)	157,10 ± 32,23	165,29 ± 31,85	0,149
LDL-colesterol (mg/dl)	84,59 ± 27,71	95,25 ± 24,61	0,020
HDL-colesterol (mg/dl)	50,67 ± 14,55	51,32 ± 11,22	0,768
Triglicéridos (mg/dl)	112,26 ± 68,06	89,98 ± 42,16	0,040
Acido úrico (mg/dl)	5,64 ± 1,24	5,17 ± 1,41	0,055
TSH (mU/ml)	3,09 ± 1,23	2,84 ± 1,27	0,268
Glucemia basal (mg/dl)	92,02 ± 7,09	89,23 ± 7,53	0,079
Insulina en ayunas (µU/ml)	25,73 ± 18,56	16,17 ± 7,80	0,006
QUICKI	0,30 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,016
HOMA-R	7,03 ± 5,08	4,06 ± 2,33	0,002

El síndrome metabólico se diagnosticó en 18 sujetos de los 94 niños sometidos a SOG, lo que supone una prevalencia del 19,1%. Por sexos, la prevalencia fue del 23,5 % en niños y del 15,4 % en niñas ($p = 0,240$). Dentro del grupo con síndrome metabólico, encontramos que el 72,2% de los niños presentaban esteatosis hepática frente al 27,8% del grupo sin esteatosis, siendo dicha diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,001$).

Conclusiones: El 34,7% de los niños obesos presentan hígado grado. El síndrome metabólico, la hiperinsulinemia y los niveles altos de ALT son los factores de riesgo relacionados con la esteatosis hepática en la obesidad infantil.

Enfermedades metabólicas

INMUNOMODULADORES EN LA ENFERMEDAD HEPÁTICA GRASA NO ALCOHÓLICA DE LA OBESIDAD MÓRBIDA

M.L. García-Torres, C. Montoliu, J.A. del Olmo, M. Civera, N. Cassinello, J. Ortega, C. Faus, J. Martínez-Valls, P. Lluch, M.A. Serra y J.M. Rodrigo

Hepatología, Endocrinología, Cirugía y Anatomía Patológica. Hospital Clínico. Valencia.

Objetivo: Estudiar la Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica (EHGNA) en pacientes con Obesidad Mórbida (OM) y analizar las diferencias entre las diferentes lesiones según parámetros clínico-analíticos e inmunomoduladores lipídicos y de fibrogénesis.

Material y método: Estudio prospectivo que comprende:

Paciente: Grupo OM: 48 pacientes diagnosticados de OM con edad media $46,9 \pm 7,9$ de los que son 40 mujeres y 8 hombres. Grupo Control: 19 sujetos sin sobrepeso y con analítica y ecografía normales.

Estudio clínico-analítico: se recogen: edad, sexo, peso, talla, perímetro cadera y abdominal, Índice Masa Corporal (IMC), antecedentes de enfermedad y tratamiento farmacológico, Síndrome Metabólico, morfometría y química hemática, marcadores virales, Resistencia Insulina (HOMA).

Inmunomoduladores: Se analizan por técnicas de Elisa: Leptina, Adiponectina, CK18Asp396(CK18), Interleucina 6 y 18(I-6, I-18).

Estudio histológico: Se obtiene tejido hepático durante intervención quirúrgica para OM y se realiza el Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Score: Grado de Esteatosis, Fibrosis, Inflamación, Lesiones Hepatocitarias y Otras lesiones.

Los parámetros obtenidos se introducen en base de datos de SPSS 13.0 practicándose las pruebas estadísticas habituales para valores cuali, cuantitativos y correlaciones.

Resultados: Existía Diabetes (38,2%), Síndrome Metabólico (40%), Hipertensión arterial (36,4%), IMC ($40-50:58,2\%$; $> 50:41,8\%$), Resistencia Insulina (83,3%), Índice cintura/cadera ($> 0,9: 27,9\%$). Las transaminasas se encontraban elevadas sólo en la mitad de los casos. Se diagnosticó: Hígado Normal (2,1%), Esteatosis (60,4%), Esteatohepatitis (35,4%), Cirrosis Hepática (2,1%). Los pacientes con EHGNA mostraron, comparativamente con el grupo control, valores estadísticamente más llevados de leptina, CK-18, I-6 e I-18 e inferiores de adiponectina. En el grupo EHGNA los pacientes con esteatohepatitis mostraban, comparativamente con los de esteatosis, valores más alterados de índice cintura/cadera, insulina, hemoglobina glicosilada, resistencia insulina, T4, LDL y triglicéridos. Así mismo los niveles de adiponectina se encontraron descendidos y los de leptina similares en la esteatohepatitis, mientras que la CK-18, I-6 e I-18 estaban elevados. Según los parámetros del NAFLD Score la CK 18 e I-18 se diferenció ($p = 0,02$ y $0,017$ respectivamente) únicamente en la Fibrosis, mientras la I-6 mostró diferencias según Esteatosis ($p = 0,045$, Fibrosis ($p = 0,001$) y Lesiones de Hepatocitos $p = 0,04$).

Conclusiones: La EHGNA se desarrolla en la gran mayoría de los pacientes con Obesidad Mórbida y en un tercio de ellos en forma de Esteatohepatitis. Suele presentar valores de transaminasas normales. La Resistencia a Insulina y el aumento proporcional de la grasa abdominal se correlacionan con las formas más graves (esteatohepatitis). El descenso de adiponectina favorece el desarrollo de esteatohepatitis. El aumento de CK-18, I-6 e I-18 indican incremento de fibrosis.

VALOR DE LA EXCRECIÓN DE COBRE URINARIO TRAS ESTIMULACIÓN CON D-PENICILAMINA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE WILSON

J.R. Foruny^a, M.A. Rodríguez-Gandía^a, M. Villafruela^b, M. Vázquez-Romero^a, A. López-San Román^a, E. Vázquez-Sequeiros^a, G. De la Poza^a, C. Martín de Argila^a, C. Camarero^c y D. Boixeda^a

^aGastroenterología Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid,

^bGastroenterología Hospital Universitario Príncipe de Asturias de

Alcalá de Henares, ^cPediatría Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid.

Introducción: El diagnóstico de la enfermedad de Wilson (EW) se basa en la biopsia hepática (BH) y en la cuantificación de la concentración intrahepática de cobre (CIHC). Existen pocos estudios acerca de la utilidad diagnóstica de la determinación de cobre (Cu) excretado en orina de 24 horas tras estimulación con D-penicilamina.

Objetivo: Determinar la utilidad de la prueba de estimulación con D-penicilamina en el diagnóstico de la EW en adultos y su correlación con la CIHC.

Material y métodos: Estudio prospectivo (septiembre 1998-septiembre 2007) realizado en adultos con sospecha de EW. Determinaciones (todos los pacientes): protocolo completo para estudio de hepatopatía crónica, *Cu sérico total*, *ceruloplasmina plasmática*, *excreción urinaria de Cu durante 24 horas basal y postestimulación* (1 g D-penicilamina repartida en 2 dosis espaciadas en 12 h el día de la recogida). *Biopsia hepática con determinación de CIHC* sólo en pacientes ceruloplasmina baja (< 20 mg/dl) asociada a hipertransaminasemia persistente o a excreción urinaria de Cu basal > 40 µg/24 h. Diagnóstico de EW según criterios de Sterlieb (ceruloplasmina < 20 mg/dl y Cu intrahepático > 250 µg/g)¹ y puntuación obtenida en la escala diagnóstica propuesta por un panel de expertos (EW ≥ 4 puntos)². En casos dudosos se realizó análisis genético para detección de mutaciones del gen ATP7B. Análisis estadístico: programa SPSS 10.0 (test-Wilcoxon, Mann-Whitney) y curvas ROC.

Resultados: 88 adultos con sospecha de EW, realizándose BH en 43. Edad media de los pacientes biopsiados $36,5 \pm 11,7$ años (rango 14-67); 40 eran varones.

Diagnosticados de EW 6 pacientes (Cu intrahepático > 250 µg/g y puntuación en escala diagnóstica ≥ 4). Se descartó EW en el resto de los pacientes biopsiados (37 pacientes con cobre intrahepático < 250 µg/g y puntuación en la escala ≤ 2). Analizando las determinaciones empleadas, encontramos diferencias significativas en: a) *niveles de Cu en orina de 24 h basal* [mediana 134,3 µg/24h (Q_{1-3} 134,3-492,6) en EW vs mediana 19,0 µg/24h (Q_{1-3} 18,7-21,6) en grupo sin EW; $p < 0,05$] y b) *niveles de Cu en orina de 24h tras estimulación* [mediana 1284,0 µg/24h (Q_{1-3} 1134,2-3100,8) en EW vs mediana 776,0 µg/24h (Q_{1-3} 557,5-896,3) en grupo sin EW; $p < 0,01$]. En las curvas ROC confeccionadas la variable con mayor área bajo la curva fue el Cu urinario postestimulación (AUC = 0,900). El punto de corte calculado mediante la curva con mejor relación sensibilidad/especificidad (100%/80,7%) fue 1057 µg Cu/24 h.

Conclusión: La determinación de Cu en orina durante 24 h tras estimulación con D-penicilamina puede ser muy valiosa en el diagnóstico de EW, especialmente para evitar la realización de BH en pacientes con baja probabilidad diagnóstica de EW (Cu urinario post-estimulación < 1057 µg/24 h).

1. Sternlieb I. Hepatology 1990;12:1234-1239.

2. Ferenci P et al. Liver Int 2003;23:139-42.

LA ADMINISTRACIÓN DURANTE UN MES DE DIETA DE CAFETERÍA INDUCE ENFERMEDAD HEPÁTICA POR DEPÓSITO DE GRASA Y DISFUNCIÓN SINUSOIDAL ENDOTELIAL

M. Pasarín, J.G. Abalde, A. Rodríguez-Vilarupla, V. Matei, J. Gracia-Sancho, J.C. García-Pagán y J. Bosch

Laboratorio de Hemodinámica Hepática, Servicio de Hepatología, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS y Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd)

La insulino-resistencia (IR) es el hecho fisiopatológico característico de la enfermedad hepática por depósito de grasa (EHDG). La IR se asocia con disfunción endotelial, caracterizada por una producción endotelial de NO disminuida, en parte a través de una disminución de la actividad de la vía PI3K/Akt/eNOS. Mientras que la disfunción endotelial periférica es un fenómeno extensamente caracterizado en las situaciones de IR, no existen datos sobre la situación funcional del endotelio sinusoidal hepático en el síndrome metabólico. El objetivo de este estudio fue evaluar en un modelo de EHDG si ésta se asocia a la aparición de disfunción endotelial sinusoidal hepática.

Métodos: En 20 ratas WKY se administró durante un mes una dieta control (n = 10) o una dieta de cafetería (CF; n = 10), dieta rica en grasa (65%) predominantemente saturada y colesterol. A los 30 días se realizaron estudios metabólicos, estudios hemodinámicos *in vivo*, perfusión hepática *ex-vivo*, western blotting y tinciones H/E y *oil red* del hígado.

Resultados: Las ratas alimentadas con dieta CF desarrollaron manifestaciones del síndrome metabólico (obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia, intolerancia a la glucosa e IR) (tabla). Al examen microscópico los hígados mostraban marcada esteatosis y *ballooning* hepatocitario. La presión portal *in vivo* fue similar en los dos grupos de ratas, mientras que la presión portal en perfusión fue significativamente mayor en las ratas de cafetería. El grupo CF mostró disfunción endotelial sinusoidal, caracterizada como una reducción de la respuesta vasodilatadora a acetilcolina. Esto se asoció con una disminución significativa de la fosforilación de Akt y de eNOS, sugiriendo una alteración en la activación de la vía PI3K/Akt/eNOS.

Conclusiones: Los resultados de este estudio muestran que la administración durante un mes de dieta de cafetería induce manifestaciones del síndrome metabólico y esteatosis hepática, que se asocian con la presencia de disfunción endotelial sinusoidal hepática y un defecto en la vía de señalización de Akt-eNOS.

	Control	Cafetería	p
Aumento peso (%)	28 ± 4	37 ± 6	0,004
Presión arterial (mmHg)	129 ± 13	153 ± 22	0,023
Glucemia (mg/dl)	117 ± 19	152 ± 24	0,034
Glucemia*insulina (UA)	40 ± 10	88 ± 29	0,020
Presión de perfusión basal (mmHg)	7.2 ± 0.7	8.8 ± 0.2	0,020
Vasodilatación máxima a ACh (%)	-18 ± 6	-8 ± 4	0,013
P-Akt/Akt ratio	0,33 ± 0,10	0,06 ± 0,03	0,010
P-eNOS/eNOS ratio	3,41 ± 0,66	1,37 ± 0,37	0,030

EVOLUCIÓN DE FACTORES PROINFLAMATORIOS TRAS TRATAMIENTO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD HEPÁTICA GRASA NO ALCOHÓLICA (EHGNA)

E. Molina^a, M.A. Martínez-Olmos^b, J.F. Castroagudín^a, S. Seijo^a, E. Fernández^b, J. Mera^a, R. Villar^b y A. Álvarez-Castro^a
Servicio de Aparato Digestivo^a. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS). A Coruña.

Introducción: Es clave la existencia de un estado proinflamatorio en la patogenia y evolución a esteatohepatitis de la EHGNA. Dicha evolución se ha relacionado con hipertransaminasemia mantenida e hiperferritinemia.

Objetivo: Evaluar los cambios en adipocitoquinas y sustancias proinflamatorias en una serie de pacientes diagnosticados de EHGNA tras 6 meses de tratamiento.

Pacientes y métodos: Se valoraron 74 pacientes (50 hombres y 24 mujeres) con edad media de 47,93 ± 10,85 años diagnosticados de EHGNA en 2006 tras estudio por hipertransaminasemia y/o hepatomegalia, descartándose otras causas de hepatopatía crónica, con hallazgos ecográficos compatibles y factores metabólicos asociados. Fueron tratados durante 6 meses con dieta equilibrada moderadamente hipocalórica, ejercicio físico aeróbico y tratamiento específico de factores metabólicos de riesgo. Además de las pruebas de función hepática fueron determinados: HOMA-IR, leptina, PCR ultrasensible (PCRus), IL6, TNFalfa y homocisteína.

Resultados: En el conjunto de pacientes se objetiva descenso de ALT en 43 pacientes (58,10%) alcanzando niveles normales en 22 (29,72%). Se produce descenso de HOMA-IR, PCRus, IL-6, homocisteína y ferritina alcanzando únicamente significación estadística el descenso de leptina (1,99 ± 2,21 vs 1,05 ± 1,12; p = 0,023) que se produce en 53 pacientes (71,62%). En el subgrupo de pacientes con ALT elevada pretratamiento se observa descenso significativo de HOMA-IR en aquellos que la normalizan frente a los que la mantienen elevada (4,23 ± 2,83, 2,36 ± 1,19, 4,07 ± 3,72; p = 0,02) acompañándose de descenso significativo de TNFalfa (6,80 ± 1,61, 4,67 ± 1,28, 6,82 ± 2,66; p = 0,007). Similares resultados con respecto al TNFalfa se observan en pacientes con HOMA-IR elevado pretratamiento que lo normalizan tras el mismo (6,80 ± 1,61, 4,06 ± 1,5, 7,56 ± 0,80; p = 0,04). A pesar del descenso en estos pacientes de otros factores proinflamatorios éste no alcanza diferencias significativas. No se observan descensos significativos en el subgrupo de pacientes con ALT normal o HOMA-IR < 3,9 pretratamiento.

Conclusiones: Tras 6 meses de tratamiento integral de pacientes con EHGNA subyace un estado proinflamatorio a pesar del descenso en la resistencia a la insulina (HOMA-IR) y factores relacionados con la misma. Este descenso es significativo en el subgrupo de pacientes con ALT elevada pretratamiento que consiguen normalizarla, apoyando el papel del HOMA-IR y TNF-alfa en dicha elevación.

EXPRESIÓN INCREMENTADA DE ANFIRREGULINA, BETACELULINA Y EPIRREGULINA, LIGANDOS DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO, EN EL HÍGADO DE UN MODELO GENÉTICO DE PROTOPORFIRIA ERITROPOYÉTICA

C. Berasain^a, M. García-Bravo^b, I. Mauleón^a, A. Sampedro^a, U. Latasa^a, F.J. Corrales^a, R. Enríquez de Salamanca^b, J. Prieto^a, M.A. Ávila^a y A. Fontanellas^a

^aCentro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Avda Pio XII, 55, 31008 Pamplona. Navarra. ^bCentro de Investigación, Hospital Universitario 12 de Octubre. Avda. de Córdoba Km 5,4, 28041, Madrid.

El hígado exhibe una gran capacidad de defensa y regeneración tras agresiones químicas o virales. La activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) puede desempeñar un papel defensivo importante en la estimulación de la regeneración hepática, sin embargo, estudios recientes sugieren que su activación mantenida puede ser un mecanismo importante en el desarrollo del carcinoma hepatocelular (CHC).

Las alteraciones hepatobiliares son una característica constante en un modelo murino de protoporfiria eritropoyética (PPE, *Fech^{m1pas}/Fech^{m1pas}*). La expresión de la mutación *Fech^{m1pas}* en diversos fondos genéticos muestra diferencias en el grado de deposición de protoporfirina, inflamación, fibrosis y colestasis a la temprana edad de 6 semanas; y la aparición de displasia celular y focos de CHC a los 7 meses de la edad en el fondo genético de BALB/cJ.

Objetivo: Analizar la expresión del EGFR y sus principales ligandos implicados en la regeneración del hígado, en diversos fondos genéticos del ratón PPE.

Métodos: El análisis histológico y la RT-PCR a tiempo real fueron realizados en muestras de hígado de ratones PPE de 6 semanas de edad de tres fondos genéticos (BALB/cJ, C57BL/6J y SJL/J) y en muestras de animales BALB/J de 11 meses de edad. Se cuantificó la

cantidad de ARNm correspondiente al EGFR y sus ligandos: anfi-regulina (AR), factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina (HB-EGF), factor de crecimiento transformador (TGF)-alfa, betacelulina (BTC), factor de crecimiento epidérmico (EGF), epigen (EPG) y epi-regulina (Ereg).

Resultados: El daño hepático y la deposición de protoporfirina en el hígado de ratones PPE era leve en el fondo genético SJL/J, media en BALB/J y alta en los animales criados en el fondo de C57BL/6J a las 6 semanas de vida. La expresión de los ligandos BTC, Ereg y especialmente AR, estaban incrementada en los ratones PPE respecto a ratones sanos de su mismo fondo genético. Sin embargo, la concentración de ARNm del EGFR en el hígado de ratones PPE se redujo significativamente en el fondo genético SJL/J, y permaneció incrementada en los ratones C57BL/6J y BALB/cJ.

A los 11 meses de edad, la expresión de los ligandos AR, BTC y Ereg continuaba activada en ratones porfíricos BALB/cJ, mientras que la expresión del EGFR se redujo en un 20% respecto a los ratones sanos.

Conclusiones: La inducción en la expresión génica de BTC, Ereg y especialmente AR observados en los ratones PPE sugiere un mecanismo de regeneración hepática inducida por la acumulación de protoporfirina en el hígado. Sin embargo, la expresión mantenida de AR podría participar en el desarrollo de CHC promoviendo la supervivencia de las poblaciones de hepatocitos portadores de lesiones genéticas preneoplásicas, y contribuyendo al crecimiento y a la resistencia a la apoptosis en las células transformadas.

EL DEPÓSITO DE COLESTEROL EN EL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO SE CORRELACIONA CON LA INDUCCIÓN DE LAS ENZIMAS QUE REGULAN LA HOMEOSTASIS DEL COLESTEROL Y CON LAS LESIONES DE ESTEATOHEPATITIS

F. Caballero, J. Colmenero, R. Bataller, S. Delgado, A.M. Lacy, J.C. Fernández-Checa, J. Caballería y C. García-Ruiz

Unidad de Hepatología. Instituto de Enfermedades Digestivas y Metabólicas. Hospital Clínic. CIBERehd. IDIBAPS. IIBB, CSIC. Barcelona.

El hígado graso no alcohólico (HGNA) engloba un amplio espectro de lesiones hepáticas asociadas, entre otros factores, a la obesidad y la resistencia a la insulina. La esteatosis simple suele tener buen pronóstico, mientras que la esteatohepatitis (EHNA) puede progresar a cirrosis y hepatocarcinoma. Estudios recientes en nuestro laboratorio han demostrado que el depósito de colesterol libre, pero no los triglicéridos, sensibiliza a los hepatocitos a la muerte celular mediada por el TNF/FAS, contribuyendo a la transición de esteatosis a esteatohepatitis (Cell Metab 4: 185, 2006). Además, hemos observado que la tinción con filipina que es específica para el colesterol libre, se correlaciona con los signos de inflamación y fibrosis en sujetos obesos con HGNA. Dado que la homeostasis del colesterol refleja el balance entre su síntesis, metabolismo y transporte, el objetivo del estudio ha sido analizar la expresión de las enzimas que regulan la homeostasis del colesterol en biopsias hepáticas de pacientes obesos con y sin signos de esteatohepatitis y su relación con la tinción con filipina.

Métodos: Se han estudiado 43 pacientes (18 hombres y 25 mujeres, edad 45 ± 12 años) con esteatosis o EHNA y 10 controles sanos. En todos los pacientes se obtuvo una muestra de sangre inmediatamente antes de ser sometidos a cirugía bariátrica y se practicó una biopsia hepática durante la intervención. La presencia de colesterol libre en el hígado se determinó por histoquímica, mediante tinción con filipina. En 31 de los pacientes y en los controles se realizó PCR cuantitativa a tiempo real con primers específicos para enzimas humanas claves en la síntesis y transporte de colesterol como son ABCG1, ABCG8, SREBP1, SREBP2, ACAT, HMGCoA reductasa, FAS y AMPK.

Resultados: La tinción con filipina fue positiva en todos los pacientes con EHNA y en el 60% de los pacientes con esteatosis (p

< 0,001), siendo también más intensa en los pacientes con EHNA. En todos los pacientes se observó una inducción en los niveles de SREBP1 y FAS, mientras que los pacientes con EHNA presentaron una inducción de SREBP2 entre 5 y 25 veces en relación a los controles y a los pacientes con esteatosis, observándose también una inducción de la HMGCoA reductasa. Los niveles de ACAT también estuvieron aumentados (2-5 veces) en los pacientes con EHNA con respecto al grupo de esteatosis. Los transportadores del colesterol, ABCG1 y ABCG8, estaban discretamente inducidos en todos los pacientes, al igual que la AMPK.

Conclusión: Los niveles de colesterol libre hepático están aumentados en los pacientes con EHNA en relación con los pacientes con esteatosis y se correlacionan con la inducción de SREBP2, lo que apoya la posibilidad de ensayar nuevas vías terapéuticas en estos pacientes.

EL RESVERATROL DISMINUYE LAS LESIONES HEPÁTICAS EN UN MODELO MURINO DE ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA (EHNA)

E. Hijona^a, L. Bujanda^a, M. Larzabal^b, A. González^c, J.M. García-Arenzana^c, B. Irastorza^d, P. Bachiller^d, P. Aldazabal^e y J.I. Arenas^a

Unidad Experimental. Hospital Donostia. San Sebastián. ^aServicio de Digestivo. ^bServicio de Anatomía Patológica. ^cServicio de Microbiología. ^dDepartamento de Farmacia Hospitalaria. ^eUnidad Experimental.

Introducción: La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) es una enfermedad metabólica frecuente, de etiología desconocida que se asocia a la hipercolesterolemia, la obesidad y la diabetes. Hasta en un 26% puede evolucionar a la cirrosis.

El resveratrol es un polifenol presente en la piel de las uvas y otros frutos y vegetales, que ha demostrado tener efectos beneficiosos en modelos de intoxicación alcohólica en ratones.

Objetivo: Determinar el efecto del resveratrol sobre la EHNA en ratas y su relación con el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa).

Material y métodos: Se estableció EHNA en un modelo murino mediante la administración de una dieta modificada carente de lípidos (80% almidón, 16% caseína y 4% vitaminas y minerales) administrada en 4 ciclos (1 ciclo = 3 días de ayuno y 4 días de comida). Las ratas utilizadas eran Wistar CRL: Wi (Han), machos de 225 g. Se establecieron los siguientes grupos: Control (N = 12): dieta estándar; Ayuno (N = 12): dieta estándar con ciclos; Dieta (N = 12): dieta modificada; Esteatosis (EST*) (N = 12): dieta modificada con ciclos; Simulación (SHAM) (N = 12): dieta modificada con ciclos más 1ml/día de agua bidestilada por sondaje orogástrico; Resveratrol (RES) (N = 12): Idéntico al SHAM añadiendo al agua 10 mg de resveratrol.

A los 28 días del inicio se sacrificaban las ratas. Se determinó el grado de depósito de grasa en el hígado y la determinación de transaminasas y TNF alfa en suero. El depósito de grasa se clasificó en: Grado 0 (0%), Grado I (< 33%), Grado II (33-66%), Grado III (> 66%).

Resultados: El grado de esteatosis hepática fue de III en el grupo EST y SHAM frente a 0 los grupos Control, Dieta y Ayuno (p < 0,05). El grupo RES presentó un grado I en los depósitos de grasa. Las diferencias entre el grupo SHAM y RES fueron estadísticamente significativas (p < 0,05). El nivel plasmático de ALT también fue superior en el grupo SHAM (66 mg/dl) frente al grupo RES (33 mg/dl) sin presentar diferencias significativas. La concentración de TNF-alfa, fue menor en el grupo RES (26,2 pg/ml) que en el grupo SHAM (32,7 pg/ml) y EST (33,4 pg/ml) (p < 0,05).

Conclusión: 1º El resveratrol disminuye la severidad de la EHNA en ratas. 2º Este efecto puede estar mediado por la inhibición del TNF-alfa.

Trabajo financiado por el FIS: PI04/1730 y Sanidad del Gobierno Vasco 2005111096 y 2007021011

LA TRASDUCCIÓN DEL HÍGADO CON UN VECTOR ADENOASOCIADO CODIFICANTE PARA EL ADNC DE LA PBGD REVIERTA LAS ALTERACIONES BIOQUÍMICAS Y PREVIENE LA NEUROPATÍA MOTORA ASOCIADA AL ATAQUE AGUDO EN UN MODELO MURINO DE PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

A. Fontanellas^a, A. Sampedro^a, I. Mauleon^a, A. Pañeda^a, M. Alegre^a, L. Vanrell^a, J. Twisk^b, E. Timmermans^b, R. Enríquez de Salamanca^c, S. Van Deventer^b, M.S. Rodríguez-Pena^b, G. González-Aseguinolaza^a y J. Prieto^a

^aCentro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Avda Pio XII, 55, 31008 Pamplona, Navarra, España. ^bAmsterdam Molecular Therapeutics (AMT). Meibergdreef 61, 1105 BA. Amsterdam. Holanda. ^cCentro de Investigación, Hospital Universitario 12 de Octubre. Avda. de Córdoba Km 5,4, 28041, Madrid, España.

La porfiria aguda intermitente (PAI) es una enfermedad autosómica dominante causada por una actividad reducida de la porfobilinógeno desaminasa (PBGD) hepática. Bioquímicamente se identifica por la acumulación de precursores neurotóxicos, ácido aminolevulínico (ALA) y porfobilinógeno (PBG), en situaciones de síntesis activada de hemo hepático inducida por medicamentos, dieta, alcohol y/o cambios hormonales en la mujer. El síntoma que caracteriza la PAI es el ataque agudo que oscila desde ligeras molestias abdominales hasta neuropatía motora y crisis de evolución mortal.

Objetivo: Desarrollar un protocolo de trasducción del hígado mediante un vector adenoasociado (VAA) portador de PBGD en un modelo murino de PAI.

El ratón PAI presenta las características de la PAI humana, hipoactividad hepática de PBGD y excreción masiva de ALA y PBG por la orina tras la administración de fenobarbital (Fb). Ratones PAI macho recibieron hasta 1×10^{11} gv/ratón, iv, de VAA portador del ADNC de la PBGD dirigido por un promotor hepatoespecífico. Las hembras se inyectaron con 1×10^{11} gv/ratón. Los ratones PAI control recibieron un vector portador del gen reportero luciferasa. Los animales se sacrificaron a los tres meses de la inyección de VAA. Otros dos ratones PAI machos recibieron 5×10^{10} gv VAA-PBGD/ratón, iv, para determinar la evolución de la conducción nerviosa tras la inducción de ataques agudos repetidos.

Los animales fueron tratados con Fb a las 2, 4 y 13 semanas de la administración del VAA para simular sendos ataques de porfiria. Tras cada uno de los ataques, los animales PAI control mostraron una elevada excreción de ALA y PBG y disfunción motora medida por el test de rotarod. La administración de VAA-PBGD evitó la acumulación de ALA y PBG en los ratones tratados. La protección fue total con dosis altas ($\geq 1 \times 10^{10}$ gv) y parcial con 1×10^9 gv. La disfunción motora fue completamente abolida en los ratones tratados con VAA-PBGD. Tras el sacrificio, el hígado de los machos mostró un incremento dosis dependiente de PBGD medido por actividad enzimática, western blot, RT-PCR e inmunohistoquímica. La administración de 1×10^9 gv AAV-PBGD mostró un leve incremento de PBGD pero que indujo una significativa corrección metabólica. La expresión de PBGD fue similar entre machos y hembras inyectados con la misma dosis. Los potenciales motores evocados por estimulación proximal del nervio ciático en ratones PAI no tratados mostraron un incremento en el tiempo de latencia y duración tras la administración de Pb. Este retardo sugiere una desmielinización del nervio ciático durante el ataque agudo que no se observó en ratones sanos ni PAI tratados con VAA-hPBGD.

El estudio demuestra que la trasducción del hígado con un VAA-PBGD revierte las alteraciones bioquímicas y protege de la neuropatía motora inducida por el fenobarbital en ratones con PAI. El VAA es una alternativa terapéutica atractiva al trasplante hepático en pacientes PAI con ataques agudos recurrentes y/o neuropatía.

¿ES NECESARIO UNA NUEVA CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LAS LESIONES HEPÁTICAS EN LA OBESIDAD MÓRBIDA?

A. Gila^a, A. Palacios^a, A. García^a, S. Delgado^b, T. Caballero^c, L. Rodríguez^a, R. Quiles^a, J.A. Muñoz^a, I. García Tercero^a, J.L. Mundi^a, A. Ruiz Extremera^a y J. Salmerón^a

^aUnidad Ap. Digestivo. ^bCirugía B. ^cAnatomía Patológica y ^dPediatría. Hospital Universitario "San Cecilio". Granada CIBERehd.

Introducción: El hígado en la obesidad mórbida presenta lesiones que abarcan desde la esteatosis leve hasta la esteatohepatitis. La dis-

cordancia de los hallazgos histológicos entre los diferentes autores ha hecho que se plantee una nueva clasificación (Kleiner) para unificar criterios.

Objetivos: Comparar las lesiones histológicas de la clasificación de Brunt con el nuevo score (Kleiner), y estudiar las variables que se relacionan con cada clasificación.

Pacientes y métodos: Se estudiaron por un mismo patólogo las biopsias hepáticas de 104 pacientes obesos mórbidos sometidos a cirugía bariátrica. Primero, por la clasificación de Brunt, considerando la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) a la presencia de esteatosis, inflamación, balonización y fibrosis centrolobulillar (pericelular y perivenular). Posteriormente, se aplicó la de Kleiner, en la que un índice de actividad histológica (IAH) ≥ 5 es diagnóstico de EHNA. El IAH se define como la suma aritmética de la puntuación semicuantitativa de tres lesiones histológicas que pueden ser reversibles a corto plazo: esteatosis (0 a 3), inflamación lobulillar (0 a 3) y balonización hepatocelular (0-2). En esta clasificación no se considera la fibrosis hepática para el diagnóstico de EHNA.

Resultados: de los 104 pacientes, 78 (75%) eran mujeres y 26 (25%) hombres. La edad media fue de $42,5 \pm 12$ y el IMC de $51,4 \pm 9$. La esteatosis se clasificó en leve (31%), moderada (26%) y grave (24%); y la fibrosis en estadio I (51%), estadio II (15%), estadio III (3%) y estadio IV (0%). Los factores que se relacionaron con el grado de esteatosis fueron AST, ALT, GGT y triglicéridos; los relacionados con el estadio de fibrosis fueron glucemia, HOMA y AST. Se diagnosticó EHNA en 13 (12,5%) pacientes por la clasificación de Brunt y en 15 (14,42%) por la de Kleiner. El diagnóstico coincidió en ambas clasificaciones en sólo 8 pacientes; 5 tenían EHNA por Brunt y no por Kleiner, y 7 la tenían según Kleiner y no por Brunt ($P = 0,001$). Los factores que condicionaron la presencia de EHNA según Kleiner fueron: AST (46 ± 19 vs 26 ± 11 , $P = 0,001$), ALT (59 ± 33 vs 40 ± 65 , $P = 0,001$), GGT (48 ± 39 vs 31 ± 30 , $P = 0,019$), LDL-colesterol (90 ± 65 vs 110 ± 39 , $P = 0,088$) y triglicéridos (247 ± 165 vs 154 ± 107 , $P = 0,028$). El resto de factores epidemiológicos y analíticos estudiados no fueron estadísticamente significativos. Los factores de EHNA según Brunt fueron: HOMA (6 ± 2 vs $3 \pm 2,42$, $P = 0,005$), colesterol (158 ± 65 vs 195 ± 52 , $P = 0,032$) y HDL-colesterol (49 ± 25 vs 103 ± 118 , $P = 0,006$).

Conclusiones: El nuevo score (Kleiner) valora mejor las lesiones histológicas en los pacientes con obesidad mórbida y EHNA, y facilita que se unifiquen los criterios histológicos entre distintos autores. En cambio, la clasificación de Brunt se relaciona más con el síndrome metabólico.

MARCADORES PLASMÁTICOS DE ESTRÉS OXIDATIVO (EO) Y CITOQUINAS EN LA ENFERMEDAD DE HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA) EN LA OBESIDAD INFANTIL

A. Ruiz Extremera^a, A. Goicoechea^a, A. Salmerón^b, J. León^c, A. Carazo^c, J. Casado^c, J.M. Fernández García^a, M. Garofano^b, E. Ocete^a, A. Martín^c, P. Muñoz de Rueda^c y J. Salmerón^c

^aServicio de Pediatría, ^bRadiología y ^cUnidad de Ap. Digestivo. Hospital Universitario San Cecilio de Granada. CIBERehd.

Introducción: La EHGNA es un problema emergente en la población infantil. Aunque este síndrome tiene una etiología multifactorial, la obesidad es el factor que se asocia de forma más consistente. La resistencia a la insulina (RI) y el EO son fundamentales en el desarrollo de este cuadro.

Objetivos: Conocer el comportamiento de los marcadores de EO y citoquinas plasmáticas en niños obesos y su relación con la esteatosis (ecografía), el aumento de ALT y la RI.

Pacientes y métodos: Se han estudiado de forma prospectiva 150 pacientes con una edad entre 4 y 15 años (47% niñas), remitidos a la consulta de endocrinología infantil por obesidad ($\text{IMC} > p95$). Tras un ayuno de 10 horas se tomaron muestras de sangre venosa para determinación bioquímica, RI por el método HOMA, marcadores de EO (peroxidación lipídica o LPO plasmática, sistema glutatión -GSH, GSSG, GPx y GRd- intraeritrocitario y nitritos plasmáticos) y citoquinas plasmáticas (receptor soluble de TNF_α o $\text{RTN}\alpha$ y TNF_α , leptina, adiponectina, resistina, IL-6, MCP-1). La esteato-

sis hepática fue valorada ecográficamente (leve, moderada y grave) por el mismo observador en 120 niños.

Resultados: El 45 % (IC 95% 36%; 54%) de los niños presentaban esteatosis, en 16 (13,5%) fue moderada-grave. En el 9,5% la ALT estaba aumentada ($> 40 \text{ U/L}$). El 90% de los niños con aumento de ALT presentaban esteatosis frente al 40% con ALT normal ($P = 0,003$). Los parámetros relacionados con la esteatosis fueron IMC (30 ± 4 vs 28 ± 3 , $p = 0,04$), insulina (19 ± 12 vs 13 ± 5 , $P = 0,001$), HOMA ($4,1 \pm 2$ vs $2,5 \pm 1$, $P = 0,001$), ALT (28 ± 16 vs 21 ± 7 , $p = 0,007$), HDLC (48 ± 8 vs 52 ± 10 , $P = 0,016$) y triglicéridos (94 ± 49 vs 78 ± 43 , $P = 0,05$). Los parámetros de EO que se correlacionaron con la esteatosis fueron GSSG (0,282, $P = 0,009$), GST (0,275, $P = 0,010$), GSSG/GSH (0,204, $p = 0,06$), GPx (-0,267, $P = 0,014$), GRd (-0,465, $P = 0,001$) y nitritos (0,363, $P = 0,004$). En cambio, no había ninguna correlación significativa con las citoquinas estudiadas; aunque al dicotomizarlas por la mediana se observó con más frecuencia tasas más altas de MCP-1 en los niños con esteatosis (62% vs 42%, $P = 0,027$). En los niños con ALT aumentada los resultados fueron muy parecidos a los descritos con esteatosis; además había diferencias significativas en la IL6 (75% vs 47%, $P = 0,06$). El índice HOMA se correlacionaba de forma negativa con GPx (-0,283, $P = 0,01$), GRd (-0,234, $P = 0,037$), resistina (-0,173, $P = 0,006$, adiponeptina (-0,470, $P = 0,001$); también se correlacionó con el HOMA y la lectina (0,215, $P = 0,021$) de forma positiva. Por último, GST se correlacionó con MCP-1 (-0,197, $P = 0,046$).

Conclusiones: La esteatosis hepática en los niños obesos es frecuente. El estrés oxidativo y las citoquinas son factores importantes en la aparición de RI y esteatosis, y podrían actuar conjuntamente en su desarrollo.

Tumores hepáticos

CARCINOMA HEPATOCELULAR EN EL ANCIANO: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y SUPERVIVENCIA EN UNA SERIE RETROSPECTIVA DE 49 PACIENTES MAYORES DE 75 AÑOS

M. Fernández-Ruiz^a, J.M. Guerra-Vales^a, J. de la Cruz-Bertolo^b, J. Vila-Santos^a y F. Colina-Ruizdelgado^c

^aServicio de Medicina Interna. ^bUnidad de Investigación-Epidemiología Clínica. ^cRegistro Hospitalario de Tumores. Hospital Universitario "12 de Octubre". Madrid.

Objetivos: A pesar de su incidencia creciente entre pacientes de edad avanzada con comorbilidad asociada, dentro de nuestro medio el carcinoma hepatocelular (CHC) permanece mal caracterizado en población anciana. Esta circunstancia limita su manejo clínico y puede conducir a un nihilismo terapéutico no justificado. Pretendemos analizar la historia natural del CHC en mayores de 75 años y los factores que la condicionan, poniéndola en relación con la de pacientes de menor edad.

Pacientes y métodos: Analizamos una cohorte retrospectiva de 236 pacientes con CHC (170 varones; edad global: $65,5 \pm 11$ años), atendidos en nuestro centro en el periodo 1999-2003 y categorizados según su edad al diagnóstico: grupo 1 (≤ 75 años) [$n = 186$; media: $61,9 \pm 10$] y grupo 2 (> 75 años) [$n = 49$; media: $79,1 \pm 4$] ($p < 0,005$). Comparamos sus variables clínicas según las pruebas de χ^2 y t-student. Realizamos un análisis multivariante mediante regresión logística para determinar los factores asociados a la recepción de algún tipo de terapia loco-regional (vs paliativa). La supervivencia se basó en el modelo de Kaplan-Meier y fue comparada mediante el test de log-rank, con posterior análisis multivariante según el modelo de riesgos proporcionales de Cox.

Resultados: No se obtuvieron diferencias entre ambos grupos respecto a su distribución por sexo, presencia de cirrosis o su etiología, Child-Pugh, estadio tumoral (BCLC), presencia de ascitis o trombosis portal, o valores séricos de bilirrubina, AST, ALT, γ GT, LDH o hematocrito. El grupo de edad avanzada fue más frecuentemente diagnosticado por manifestaciones clínicas del CHC (vs seguimiento), con formas paucifocales o difusas, en estadio no localizado (se-

gún criterios de Milán), y con niveles séricos de α -fetoproteína $> 400 \text{ ng/mL}$ (todas: $p < 0,05$); la albúmina sérica fue significativamente menor en pacientes ancianos ($p = 0,006$). Este grupo fue subsidiario de tratamiento exclusivamente sintomático en el 78% de los casos (vs 33% entre pacientes jóvenes), y sólo en 3 se practicó resección quirúrgica ($p < 0,0001$). La presencia de edad > 75 años actuó como predictor independiente de la no recepción de terapia loco-regional ($p < 0,0001$). La supervivencia media del grupo de mayor edad ($9,8 \pm 1$ meses) difirió significativamente respecto a la de pacientes más jóvenes ($26,6 \pm 2$ meses) ($p < 0,0001$). En el análisis multivariante, la edad avanzada se mantuvo como factor pronóstico independiente de pobre supervivencia ($p = 0,049$); esta variable, sin embargo, perdió significación al estratificar dicho análisis por subgrupos de tratamiento (loco-regional vs sintomático) ($p = 0,536$).

Conclusiones: Los pacientes ancianos afectos de CHC exhiben peor pronóstico respecto a los más jóvenes. Esta circunstancia, más allá de sus diferencias en cuanto a extensión tumoral o insuficiencia hepatocelular, parece condicionada por la aplicación de un tratamiento sub-óptimo en este grupo de población.

EL ANÁLISIS PROTEÓMICO IDENTIFICA NIVELES ALTERADOS DE APOLOPROTEÍNAS EN PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR DE DISTINTA ETIOLOGÍA

L.M. López-Sánchez^a, M. Pleguezuelo^a, C. LLamoza^a, C. Gómez-Herruzo^a, P. López-Cillero^b, I. Espejo^c, M. De la Mata^a, J. Muntanés^a y A. Rodríguez-Ariza^a

^aLiver Research Unit y ^bDepartamento de Cirugía, Ciberehd, y ^cServicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba.

Antecedentes: El carcinoma hepatocelular (CHC) se caracteriza por aparecer mayoritariamente en el contexto de conocidos factores de riesgo bien definidos, con un 90 % de los casos asentando en cirrosis hepática de etiología vírica o alcohólica. El objetivo del presente estudio es la identificación, mediante análisis proteómico de expresión diferencial en plasma de pacientes con y sin CHC, de nuevos marcadores moleculares que permitan una mejor detección y predicción de la progresión de esta enfermedad.

Métodos: Se obtuvieron muestras de plasma de 61 pacientes con cirrosis hepática de diferentes etiología (21 de alcohol, 18 de VHB y 22 de VHC), con y sin CHC. Tras la inmunodepleción de las proteínas plasmáticas más abundantes, el resto se analizó mediante electroforesis 2D y las proteínas de interés se identificaron mediante espectrometría de masas. Se analizaron comparativamente las muestras procedentes de pacientes sin CHC y pacientes con CHC con la misma etiología de la enfermedad hepática subyacente. También se analizaron muestras pareadas de tejido tumoral y no tumoral procedente de pacientes con CHC sometidos a trasplante hepático en el Hospital Universitario Reina Sofía.

Resultados: El análisis proteómico comparativo identificó a las apolipoproteínas E, A1 y A4, y a FHR-1 (proteína relacionada con el Factor H del complemento) y CD5L (proteína CD5 antigen-like) como proteínas con un patrón de expresión diferencial en el plasma de pacientes con CHC. Los niveles alterados de apolipoproteínas se confirmaron mediante nefelometría (ApoA1) y Western-Blot bidimensional (ApoA1 y ApoE). Además, los resultados indicaron que los cambios en los niveles plasmáticos de ApoA1 y ApoE dependieron de la etiología del tumor, con mayores niveles de ApoE en pacientes con CHC de etiología etílica y bajos niveles en aquellos con un tumor de etiología vírica, mientras que se observó lo contrario en el caso de ApoA1. La proteína FHR-1 mostró un patrón de cambios muy similar a ApoA1, con la cual interacciona. Por otro lado, los niveles de ApoA4 fueron más bajos en los pacientes con CHC, independientemente de su etiología. Los análisis comparativos en tejido tumoral y no tumoral mediante Western-Blot y RT-PCR cuantitativa indicaron que los niveles alterados de ApoE pueden deberse a la alteración de la secreción de esta apolipoproteína, sobre todo en aquellos tumores de etiología vírica.

Conclusiones: La alteración de los niveles de apolipoproteínas en plasma constituyen un potencial biomarcador de CHC en pacientes con cirrosis hepática de diversa etiología.

ANÁLISIS PROTEÓMICO DE EXPRESIÓN DIFERENCIAL EN TUMORES DE PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR SOMETIDOS A TRASPLANTE HEPÁTICO

L.M. López-Sánchez^a, M. Pleguezuelo^a, C. LLamoza^a, M. Gómez-López^b, J. Briceño^b, M. de la Mata^a, J. Muntané^a y A. Rodríguez-Ariza^a

^aLiver Research Unit y ^bDepartamento de Cirugía, Ciberehd, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba.

Antecedentes: El carcinoma hepatocelular (CHC) es el tumor hepático primario más frecuente en la edad adulta, y se caracteriza por aparecer mayoritariamente en el contexto de enfermedad hepática crónica y cirrosis. El pronóstico de los pacientes con CHC depende del momento evolutivo en que se efectúe el diagnóstico y la única estrategia para disminuir la mortalidad asociada a esta enfermedad es una detección temprana que permita una terapia efectiva. También es necesario poder disponer de marcadores de recidiva del CHC tras la resección o el trasplante. Por ello existe un creciente interés en la identificación de nuevos marcadores moleculares del CHC y en este sentido, la naturaleza dinámica del proteoma de una célula o tejido justifica el estudio de la enfermedad directamente a nivel proteómico.

Métodos: Se obtuvieron muestras pareadas de tejido tumoral y no tumoral procedentes de pacientes con CHC de distinta etiología (alcohol, VHB y VHC) sometidos a trasplante hepático en el Hospital Universitario Reina Sofía. Tras la extracción y solubilización de proteínas, el patrón diferencial de expresión se analizó mediante electroforesis 2D y aquellas proteínas que mostraron una expresión alterada al comparar tejido tumoral y no tumoral se identificaron mediante espectrometría de masas.

Resultados: El análisis mediante electroforesis 2D reveló 18 manchas proteicas con expresión alterada entre tejido tumoral y no tumoral que correspondieron a 12 proteínas identificadas que participan en el metabolismo, mecanismos de endocitosis y adhesión celular, regulación de la transducción de señales intracelulares y de la actividad proteolítica. La expresión alterada de algunas de estas proteínas dependió fuertemente de la etiología del CHC. El aumento de expresión de algunas isoformas de la hidroximetil-glutaril-CoA sintasa mitocondrial y de la proteína reguladora GDI (Rab GDP dissociation inhibitor protein) se observó fundamentalmente en muestras de pacientes con VHB. Por otro lado, aunque se observó un incremento de expresión de citoqueratina 18 en tejido tumoral independientemente de su etiología, la citoqueratina 8, que interacciona con la proteína core del VHC, sólo aumentó de expresión en tumores procedentes de pacientes con VHC.

Conclusiones: El análisis proteómico ha permitido en este estudio la identificación de proteínas con expresión alterada en el CHC. La caracterización de su participación en los mecanismos de patogénesis permitirá, además de su uso como nuevos marcadores moleculares de diagnóstico, la determinación de nuevas dianas terapéuticas en CHC de diferente etiología.

RELEVANCIA DE LA VÍA SEÑALIZACIÓN DE IGF EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR HUMANO Y EVALUACIÓN PRE-CLÍNICA DE NUEVAS TERAPIAS SELECTIVAS ANTI-IGFR1

V. Tovar¹, C. Alsinet¹, L. Cabellos¹, M. Solé¹, A. Villanueva², D. Chiang³, S. Moyano¹, A. Lázaro¹, M. Schwartz², V. Mazzaferro⁴, J. Bruix¹ y J.M. Llovet^{1,2}

¹BCLC Group. Servicio de Hepatología, Hospital Clinic, IDIBAPS, Barcelona, Spain. ²Mount Sinai Liver Cancer Program. Division of Liver Diseases, Mount Sinai School of Medicine, Nueva York, USA.

³Cancer Program, Broad Institute, Boston, USA, ⁴Istituto Nazionale dei Tumori, Milan, Italia.

Introducción: La activación aberrante de la vía de señalización de IGF está implicada en la transformación neoplásica. Datos preliminares sugieren la activación de esta vía en el carcinoma hepatocelular (CHC). Las terapias selectivas que bloquean esta vía de señalización han sido escasamente testadas en el CHC.

Objetivos: 1) Explorar el papel de la vía de señalización de IGF en una cohorte de 104 CHC asociados al VHC 2) Evaluar la efectividad del bloqueo selectivo de la actividad del receptor IGFR1 mediante terapias moleculares.

Métodos: Se analizó la vía de señalización de IGF en 104 pares de CHC/tejido cirrótico y 10 tejidos control de hígado sano mediante el análisis de la activación de 6 proteínas (IGF-II, pIGFR1, pIRS-1, pAkt, pERK, y pS6; inmunohistoquímica y inmunoblot); los niveles de expresión de 7 genes (IGF-I, IGF-II, IGFR1, IGFR2, IRS-1, IRS-2, y IGFBP-3; PCR-Q a tiempo real); y las aberraciones cromosómicas mediante SNP-array (Affymetrix STY Mapping Array®). Líneas celulares de cáncer hepático (Huh7, Hep3B y HepG2) se cultivaron con concentraciones crecientes de un anticuerpo monoclonal contra IGFR1 (A12, ImClone). Se evaluó la viabilidad celular (MTT), proliferación celular (incorporación de timidina³[H]), el ciclo celular (FACS), y la expresión proteica (inmunoblot). Finalmente, se generó un modelo xénograft de CHC en ratones atímicos en el que se evaluó el efecto *in vivo* de A12 (n = 14) comparado con un grupo control (n = 12).

Resultados: Un 19% (16/85) de las muestras de CHC presentó activación de la vía de IGF (tinción positiva para pIGFR1), que se correlacionó con la activación de la vía de mTOR (tinción positiva de pS6), p = 0,02 y con los niveles de expresión de IGF-II (p = 0,004). Se observaron valores de expresión de IGF-II muy aumentados (> 10 veces) en un 12,5% (13/104) de los CHC, mientras que la expresión de IGF-I y IGFBP-3 se observó significativamente disminuida (p < 0,05 y p < 0,0001, respectivamente). El análisis de SNP-array reveló que 25 muestras presentaban disminución en el número de copias (LOH) en el gen IGFR2. El bloqueo de la activación de IGFR1 con A12 [0,1–200 nM] disminuyó la viabilidad celular a las 48h un 35%, y provocó una disminución de la proliferación celular del 15-30% sin inducir niveles significativos de apoptosis. *In vivo*, A12 ralentizó el crecimiento tumoral y un aumento significativo de la supervivencia en un subgrupo de ratones respondedores para A12 (media de supervivencia de 21,9 días, IC_{95%} [16,1, 27,8]) en comparación con el grupo PBS (media de 16,3 días, IC_{95%} [12,8, 19,9]), p = 0,001.

Conclusión: La vía de señalización de IGF está activada en un subgrupo de pacientes con CHC, principalmente por el incremento en la expresión de IGF-II y la pérdida de heterozigocidad del gen IGFR2. La administración de A12 reduce la viabilidad celular y la proliferación *in vitro*, y enlentece el crecimiento tumoral y mejora la supervivencia *in vivo*. Existe base racional para testar este tratamiento en ensayos clínicos de CHC.

SORAFENIB AUMENTA LA SUPERVIVENCIA EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR AVANZADO. RESULTADOS DEL ENSAYO CLÍNICO SHARP

A. Forner¹, S. Ricci², V. Mazzaferro³, P. Hilgard⁴, E. Gane⁵, J.F. Blanc⁶, A. Cosme de Oliveira⁷, A. Santoro³, J.L. Raoul⁸, M. Schwartz⁹, C. Porta¹⁰, S. Zeuzem¹¹, L. Bolondi¹², T.F. Greten¹³, P.R. Galle¹⁴, J.F. Seitz¹⁵, I. Borbath¹⁶, D. Häussinger¹⁷, T. Giannaris¹⁸, M. Shan¹⁹, M. Moscovici³, D. Voliotis²⁰, J.M. Llovet⁹, J. Bruix¹, en nombre del equipo de investigadores del estudio SHARP

¹Barcelona Clínic Liver Cancer (BCLC) Group, Servicio de Hepatología, IDIBAPS, Hospital Clínic Barcelona, Barcelona, España;

²Pisa, Italia; ³Milan, Italia; ⁴Essen, Alemania; ⁵Auckland, Nueva Zelanda; ⁶Bordeaux, Francia; ⁷São Paulo, Brasil; ⁸Rennes, Francia;

⁹Mount Sinai Liver Cancer Program, Division of Liver Diseases, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, USA; ¹⁰Pavia, Italia;

¹¹Frankfurt, Alemania; ¹²Bolonia, Italia; ¹³Hannover, Alemania;

¹⁴Mainz, Alemania; ¹⁵Marsella, Francia; ¹⁶Bruselas, Bélgica;

¹⁷Düsseldorf, Alemania; ¹⁸Toronto, Canada; ¹⁹West Haven, CT, USA;

²⁰Milan, Italia; ²⁰Wuppertal, Alemania.

Introducción: El carcinoma hepatocelular (CHC) constituye actualmente la tercera causa de muerte por neoplasia. Los pacientes con CHC en estadio avanzado presentan una supervivencia mediana de 6 meses y hasta la fecha ningún tratamiento ha demostrado efica-

cia en términos de supervivencia. Sorafenib es un inhibidor multi-quinasa de Raf, VEGFR y PDGFR disponible por vía oral, con actividad antiproliferativa y antiangiogénica en modelos in vivo, que ha mostrado eficacia en pacientes con CHC avanzado en un ensayo fase 2.

Pacientes y métodos: Se trata de un estudio multicéntrico, randomizado, doble ciego, controlado con placebo que evaluó sorafenib 400 mg/12 h (299 pacientes) versus placebo (303 pacientes) en pacientes cirróticos con función hepática conservada (Child-Pugh A), performance status 0-2, afectos de CHC avanzado confirmado histológicamente que no hubieran recibido tratamiento sistémico. Los objetivos primarios fueron supervivencia global y progresión sintomática (FHSI8-TSP). Los objetivos secundarios fueron tiempo a progresión, respuesta radiológica y seguridad. Se planificaron dos análisis interinos para detectar de forma prematura eficacia del tratamiento.

Resultados: No hubieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo sorafenib y placebo; edad mediana (67a vs 68a), varones (87% vs 87%), PS 0 (54% vs 54%), Child-Pugh A (95% vs 98%) y BCLC C (82% vs 83%), respectivamente. El ensayo finalizó en el segundo análisis interino (321 fallecimientos; sorafenib; 143, placebo 178) tras demostración del beneficio del sorafenib. La supervivencia mediana fue 10,7 meses con sorafenib y 7,9 meses con placebo (HR S/P: 0,69; IC95%: 0,55-0,87; $P < 0,001$; 44% de aumento probabilidad de supervivencia). No hubieron diferencias en FHSI8-TSP. La mediana de tiempo a progresión fue 5,5 meses con sorafenib y 2,8 meses con placebo (HR S/P: 0,58; IC95%: 0,45-0,74; $P < 0,001$; 73% de aumento del tiempo a progresión radiológica). Se objetivó respuesta parcial en 7 pacientes (2,3%) en el grupo sorafenib y dos pacientes (0,7%) en el grupo placebo, mientras la progresión libre de enfermedad a los cuatro meses fue 62% y 42%, respectivamente ($P < 0,001$). Diarrea (39% vs 11%), anorexia (14% vs 3%), pérdida de peso (9% vs 1%), síndrome mano-pie (21% vs 3%) y alopecia (14% vs 2%) fueron más frecuentes en el grupo sorafenib, pero en la mayoría de los casos fueron leves y de fácil manejo clínico.

Conclusiones: Sorafenib es el primer tratamiento sistémico que ha demostrado aumento significativo de la supervivencia en pacientes afectos de CHC avanzado.

ESTUDIO DEL DAÑO HEPÁTICO PRODUCIDO POR LA RADIOEMBOLIZACIÓN CON MICROESFERAS DE YTTRIO90

B. Gil, M. Iñarrairaegui, J. Rodríguez, A. Martínez-Cuesta, J.I. Bilbao, F. Alegre, J.I. Herrero, J. Quiroga, J. Prieto y B. Sangro

Clínica Universitaria de Navarra.

Introducción: La radioembolización (RE) con microesferas de ytrio90 es un procedimiento para el tratamiento de los tumores hepáticos. La toxicidad hepática de esta técnica nunca ha sido estudiada con profundidad.

Objetivos: Investigar la incidencia, características y factores que influyen en la aparición de daño hepático tras RE.

Material y métodos: Se ha estudiado la aparición de toxicidad hepática en todos los pacientes sin hepatopatía crónica sometidos a RE entre septiembre 2003 y julio 2006, evaluando más de 100 variables relacionadas con el paciente, el tumor, el hígado y el tratamiento. Se realizó un estudio univariado utilizando un test de Mann-Whitney U par las variables continuas y un test de Fischer para las variables categóricas. Debido al tamaño muestral, se seleccionaron para el análisis multivariado (utilizando un modelo de regresión logística) las variables clínicamente relevantes y con significación en el univariado a nivel de $p = 0,1$. Para comprobar la bondad de ajuste se empleó el test de Hosmer-Lemeshow.

Resultados: Un 20% de los 45 pacientes desarrolló un cuadro consistente en ictericia y ascitis (en ausencia de progresión tumoral o dilatación biliar) entre 4 y 8 semanas tras el tratamiento. En 3 pacientes, el cuadro fue grave, con elevación de bilirrubina por encima de 20 mg/dl, marcada ascitis y deterioro de la función he-

pática. La biopsia hepática de 2 de ellos fue compatible con enfermedad venooclusiva y ambos fueron tratados con colocación de TIPS con mejoría de la función hepática. En los demás pacientes, la alteración analítica fue leve, pero nunca transitoria. El grupo de pacientes que desarrolló daño hepático por RE (DHRE) era más joven (45 vs 56 años, $p < 0,05$), con menor masa corporal (IMC 23,7 vs 26,0 kg/m² $p < 0,1$), había recibido más frecuentemente quimioterapia (100% vs 66%, $p < 0,05$), tenía un menor volumen tumoral (190 vs 590 ml, $p < 0,1$), presentaba niveles séricos de bilirrubina más altos en el momento del tratamiento (1,0 vs 0,79 mg/dl, $p < 0,1$) y aunque no había recibido una actividad total mayor (actividad media: 1,6 vs 1,76 GBq, n.s), sí había recibido mayor actividad en relación al volumen hepático no tumoral tratado (37 vs 29 GBq, $p < 0,1$). En el estudio multivariado, conservaron la significación la edad inferior a 55 años ($p 0,003$) y el haber recibido una actividad superior a 0,8 GBq/L de volumen hepático no tumoral ($p 0,03$).

Conclusión: La RE puede producir un cuadro de toxicidad hepática enmarcable dentro del síndrome de obstrucción sinusoidal. Aparece exclusivamente tras RE hepática bilobar en pacientes con tratamiento quimioterápico previo. Aunque la edad y la actividad administrada pueden jugar un papel son necesarios estudios ulteriores que delimiten los factores que influyen en su aparición.

EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y LA CÁPSULA TUMORAL DETERMINAN LA RESPUESTA TERAPÉUTICA DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR A LA INYECCIÓN PERCUTÁNEA DE ETANOL: RESULTADOS DE UN ESTUDIO PROSPECTIVO

J.F. Castroagudín^a, E. Molina^a, S. Seijo^a, I. Abdulkader^b, J. Forteza^b, E. Domínguez Muñoz^a y E. Varo^c

^aAparato Digestivo, ^bAnatomía Patológica, ^cUnidad de Trasplantes Abdominales. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Universidad de Santiago de Compostela, España.

Objetivo: Determinar los factores que influyen en la eficacia en términos de inducción de necrosis tumoral del carcinoma hepatocelular (CHC) tratado mediante inyección percutánea de etanol (IPE).

Métodos: Se incluyeron de forma prospectiva 29 receptores de un trasplante hepático con la indicación de CHC tratado mediante IPE neoadyuvante en lista de espera. Se recogieron variables demográficas, clínicas, analíticas y relativas al tumor. El hígado fue examinado por un patólogo "ciego" para las características basales del tumor mediante cortes seriados de 5 mm de grosor. La respuesta local fue definida como porcentaje de necrosis respecto al volumen tumoral total. Variables histológicas adicionales fueron el grado de diferenciación tumoral, presencia de cápsula tumoral, satelitosis, nódulos a distancia, invasión vascular y tipo morfológico de cirrosis.

Resultados: Se identificó necrosis total en 17 nódulos (50%), necrosis subtotal (90-99%) en 7 (20,6%), necrosis parcial (< 90%) en 9 (26,5%) y ausencia de necrosis en un nódulo (2,9%). La mediana del porcentaje de necrosis fue del 97,5% (rango 0-100). El CHC era bien diferenciado en 28 casos (82,3%). 18 nódulos (52,9%) estaban completamente encapsulados. En 2 nódulos se observó invasión microvascular. Se efectuó un análisis univariante en el que el diámetro tumoral (< 3,5 versus > 3,5 cm), el grado de diferenciación, la presencia de cápsula tumoral y los valores de ALT y AST < 40 UI/L se asociaron con una mayor tasa de necrosis tumoral. En el análisis multivariante mediante regresión logística, el grado de diferenciación y la presencia de cápsula tumoral se asociaron con una mayor tasa de necrosis (OR 15.1, $p = 0,045$ y OR 13.7, $p = 0,033$, respectivamente), independientemente del diámetro tumoral (OR 7.6, $p = 0,063$).

Conclusiones: En la presente serie, los tumores de diámetro inferior a 3.5 cm, bien diferenciados y encapsulados presentaron mayores tasas de necrosis inducida por la IPE. De ellas, el grado de diferenciación y la presencia de cápsula constituyeron los principales predictores de la respuesta terapéutica local a la IPE.

TOLERANCIA Y EFICACIA A CORTO PLAZO DEL TRATAMIENTO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR EN ESTADIO AVANZADO CON SORAFENIB

J.F. Castroagudín^a, E. Molina^a, E. Otero^b, S. Tomé^b, R. López^c, S. Seijo^a y E. Varo^b

^aAparato Digestivo, ^bUnidad de Trasplantes Abdominales, ^cOncología Médica. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Universidad de Santiago de Compostela. España.

Objetivo: Evaluar la eficacia y la seguridad del tratamiento paliativo con Sorafenib en el carcinoma hepatocelular (CHC) en estadio avanzado.

Métodos: Diseño: Estudio prospectivo de intervención, abierto, no comparativo. Criterios de inclusión: CHC en estadio avanzado o intermedio no subsidiario o tras fracaso de tratamiento quimioembolizante. Tratamiento: Sorafenib (Nexavar®, Bayer Healthcare) con dosis objetivo de 800 mg/día bid p.o. Protocolo de seguimiento: Evaluación de bioquímica hepática y renal, iones, hemograma, función hepatocelular, performance status test (PST) y eventos adversos en los días 15, 30, 60, 90 y 120. Evaluación de la respuesta terapéutica mediante TC toraco-abdominal según criterios de la OMS-EASL en días 30 y 90.

Resultados: Trece pacientes varones, con edad media de $61 \pm 14,7$ años, fueron incluidos en el protocolo de estudio. La etiología de la enfermedad hepática fue alcohólica en 7 enfermos (53,8%), infección por VHC en 3, hemocromatosis hereditaria en 2 y criptogénica en el caso restante. El 92,3% de los sujetos se encontraban en un estadio funcional A de Child-Pugh. El 69,2% presentaban un PST 0. En un 46,1% se identificó invasión vascular de la vena porta, y en un 53,8% metástasis. La mediana de los valores basales de AFP fue de 70,2 UI/mL (32,1-17478). El evento adverso más frecuente fue el síndrome constitucional (90,9%), seguido de la diarrea (81,8%), artralgias (54,5%) síndrome flu-like y dispepsia (45,4%) y lesiones cutáneas (18,2%). En 7 casos (53,8%) fue necesaria la interrupción del tratamiento por eventos adversos. No se observaron diferencias entre los valores basales de transaminasas, función hepatocelular y PST y los controles post-tratamiento ($p > 0,05$). Cinco enfermos (38,5%) presentaron progresión tumoral, mientras que los restantes cumplían criterios de enfermedad estable. Nueve enfermos (69,2%) se encuentran vivos tras una mediana de seguimiento de 62 días (16-237).

Conclusiones: En la presente serie, el tratamiento con Sorafenib se asoció a una elevada prevalencia de eventos adversos, fundamentalmente subjetivos, los cuales motivaron la interrupción del mismo en un porcentaje significativo de casos. No obstante, no se detectó un deterioro significativo de los parámetros bioquímicos hepáticos ni de función hepatocelular.

POLI (ADP-RIBOSA) POLIMERASA-1 (PARP-1), NUEVA DIANA EN EL TRATAMIENTO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR

R. Quiles^a, J.A. Muñoz-Gómez^a, A. Ruiz-Extremera^a, A.B. Martín-Álvarez^a, L. Sanjuán-Nuñez^b, J.M. Rodríguez-Vargas^c, A. Peralta-Leal^c, P. Muñoz de Rueda^a, J. Oliver^c y J. Salmerón^a

^aUnidad Clínica de Aparato Digestivo, Hospital Universitario San Cecilio, CIBERehd, Granada. ^bFundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental "Alejandro Otero" (FIBAO), Granada. ^cInstituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra, CSIC, Granada.

Introducción: En la aparición del carcinoma hepatocelular (CHC) juegan un papel importante las lesiones del ADN junto con la respuesta inflamatoria y la generación de especies reactivas del oxígeno. Por este motivo, los mecanismos responsables de la reparación del ADN y de la respuesta inflamatoria se utilizan para estudiar nuevas dianas en las terapias del cáncer. Una de las proteínas que participan en estos mecanismos es la poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1).

Objetivos: 1) Estudiar la inhibición farmacológica de PARP-1 en la reducción del volumen tumoral de xenógrafos de CHC. 2) Analizar la expresión génica diferencial tras la inhibición química de dicha

proteína. 3) Determinar el desarrollo de la angiogénesis y su posible regulación por PARP-1 en dicho modelo.

Métodos: En 16 ratones Inmunodeficientes NCr-Nude de 5 semanas se realizó un modelo de xenógrafos mediante la inyección subcutánea de 8.000.000 células procedentes de CHC (HepG2). Un grupo de ratones ($n = 8$) se trataron farmacológicamente con el inhibidor químico de PARP-1, DPQ, a una concentración de 15 mg/kg i.p durante cuatro días consecutivos. En el grupo control ($n = 8$) no se realizó ningún tratamiento. El análisis de la expresión génica se llevó a cabo sobre las muestras de xenógrafos mediante Arrays de 54.000 genes. Se realizaron estudios de angiogénesis *in vivo* mediante la medición de contenido de hemoglobina en plugs de matrigel inyectado subcutáneamente en ratones C57BL6 a través de un método colorimétrico. Este estudio fue realizado en 4 ratones control (sin tratamiento) y 4 ratones tratados con DPQ (15 mg/kg i.p.).

Resultados: Los resultados obtenidos muestran una disminución no significativa del volumen tumoral del xenógrafo tras tratamiento con DPQ (564 mm^3 vs 394 mm^3). Por otro lado, los tumores aumentaron en los ratones no tratados (445 mm^3 vs 2942 mm^3 , $P < 0,05$). Estos datos muestran diferencias significativas de los volúmenes tumorales finales entre el grupo control y el tratado con DPQ (2148 vs 394 , $P < 0,05$). El análisis de la expresión génica demuestra que el tratamiento con el inhibidor incrementa la expresión de ciertos oncogenes (*c-myc*, entre otros). Por otro lado, los xenógrafos de los ratones tratados presentaban una elevada inducción de genes supresores de tumores (*ST8*, *RHOB*, *ID4*, *HTA-TIP2*). Otros genes interesantes implicados en la inducción y progresión tumoral que se encuentran sobre-expresados en los xenógrafos control son los siguientes (*SOX2*, *CATRI*, *PIK3CA*, *IGFBP7*, *IRS2*, *NOSTRIN*, *OPN*, *CDH5*). Por último, el estudio de angiogénesis evidenció que el inhibidor de PARP-1 reduce significativamente la formación de vasos ($1,2$ vs $0,4$, densidad óptica/100 mg de matrigel, $P < 0,001$).

Conclusión: Los resultados obtenidos indican que los inhibidores de PARP podrían ser una alternativa terapéutica en el tratamiento del CHC.

INCIDENCIA Y FACTORES ASOCIADOS AL DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA

L. Caballería, M. Bruguera y A. Parés

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, CIBERehd, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona.

El desarrollo de un hepatocarcinoma (HCC) forma parte de la historia natural de la cirrosis hepática y se ha descrito en todas las etiologías. Los datos existentes en la cirrosis biliar primaria (CBP) son menos conocidos, generalmente porque se dispone de un reducido número de pacientes o un seguimiento incompleto, aunque se ha referido que el HCC únicamente aparecería en las fases avanzadas de la enfermedad y su incidencia sería igual a la observada en cirrosis de otras etiologías. Con el fin de conocer la incidencia de HCC en la CBP se ha evaluado una serie de 389 pacientes con esta enfermedad y seguidos en el mismo centro de forma rutinaria (2-4 controles anuales) y mediante la realización de una ecografía durante cada 0,5-2 años. Los pacientes se siguieron hasta que fallecieron, fueron trasplantados o desarrollaron un HCC, durante una media de $9,5 \pm 6,0$ años.

Resultados: Trece pacientes (12 mujeres y 1 varón) desarrollaron un HCC en el curso de la enfermedad, lo cual representa una incidencia del 3,41 %. La probabilidad de desarrollo de HCC a los 5, 10, 15 y 20 años de seguimiento fue del 0%, 1,8%, 6,9% y 14,6%, respectivamente. Esta probabilidad fue distinta según el estadio histológico en el momento del diagnóstico de la CBP. Así las probabilidades de desarrollo de HCC fueron más precoces en los pacientes con estadios histológicos avanzados (III y IV) que en los pacientes con estadios histológicos iniciales (I y II) (HCC a los 5 años de 0% en los 2 grupos; a los 10 años de 1,6% y 2,9%; a los 15 años de 4,3% y 22,2%; y a los 20 años de 12,9 y 22,2%, $p = 0,016$). No se observaron diferencias significativas en las varia-

bles demográficas, clínicas ni analíticas en el momento del diagnóstico entre los 13 pacientes que desarrollan HCC y el resto de los pacientes salvo que los niveles de GGT fueron significativamente más altos y la tasa de protrombina más baja, en los pacientes con posterior HCC. Durante el seguimiento se observó que los pacientes que desarrollaron un HCC tenían una mayor incidencia de ictericia, pero similar incidencia de ascitis, hemorragia varicial o encefalopatía hepática. El 77% de los pacientes fueron tratados con ácido ursodesoxicólico (AUDC). La probabilidad de desarrollo de HCC estuvo significativamente más retrasada en los pacientes que fueron tratados con AUDC que en los que no recibieron este fármaco, pero los pacientes tratados con AUDC tenían una enfermedad menos avanzada en el momento del diagnóstico. Todos los pacientes estaban en estadios avanzados en el momento del desarrollo de HCC.

Conclusiones: El HCC aparece tras un periodo de tiempo muy prolongado de duración de la CBP, incluso en los estadios avanzados cuando se detecta una probabilidad del 22% a los 20 años. La demora en el desarrollo de HCC en los pacientes tratados con AUDC depende de la menor gravedad de la enfermedad en el momento del diagnóstico y probablemente del efecto enlentecedor sobre la progresión histológica.

IMPACTO DEL MICROAMBIENTE EN EL PRONÓSTICO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC): IDENTIFICACIÓN DE UNA FIRMA GENÉTICA CON MUESTRAS DE TEJIDO PARAFINADO

Y. Hoshida¹, B. Minguez², A. Villanueva², M. Kobayashi³, D. Chiang¹, A. Camargo⁴, K. Ikeda³, G. Watanabe⁵, S. Roayaie², M. Schwartz², S. Thung², S. Gabriel⁴, V. Mazzaferro⁶, C. Battistoni⁶, J. Bruix⁷, S. Friedman², H. Kumada³, J.M. Llovet^{2,7} y T.R. Golub¹

Cancer Program Broad Institute, USA¹, Mount Sinai Liver Cancer Program, Mount Sinai School of Medicine, USA², Department of Gastroenterology³, Surgery⁵, Toranomon Hospital, Japan Genetic Analysis Platform⁴, Broad Institute, USA. National Cancer Institute, Milan, Italy⁶, Barcelona Clinic Liver Cancer Group, Hosp Clínic Barcelona, Spain.

Introducción: El uso de perfiles de expresión genética han facilitado la comprensión de la compleja patogenia molecular del CHC y también han permitido identificar firmas genéticas capaces de predecir supervivencia y recurrencia tumoral. Actualmente, esta técnica es únicamente aplicable en muestras de tejido fresco.

Objetivo: 1) Desarrollar una firma de expresión genética en CHC a partir de tejido parafinado (tumoral y cirrótico circundante) e 2) investigar la capacidad predictiva de esta firma en términos de supervivencia y recurrencia.

Materiales y métodos: Se desarrolló una nueva plataforma (DASL: DNA-mediated annealing, selection, extension and ligation assay) capaz de investigar simultáneamente 6,000 genes a partir de muestras de tejido histórico parafinado. Se realizó microdissección de CHC y tejido cirrótico circundante en 80 pacientes (cohorte oriental: Japón) con CHC precoz. Se construyó la firma genética realizando agrupación no supervisada de los datos de expresión en tejido tumoral y cirrótico. La predicción pronóstica se realizó mediante evaluación del estado de expresión de la firma genética usando el método del *Nearest Template Prediction* (NTP). Por último, las firmas genéticas generadas en esta serie de pacientes fueron validadas en una cohorte independiente formada por 225 muestras de CHC precoz (cohorte occidental: Mount Sinai-Barcelona-Milan).

Resultados: La firma genética obtenida en el microambiente tumoral (tejido cirrótico adyacente al CHC, compuesta por 58 genes) es capaz de diferenciar 2 grupos de pacientes con marcadas diferencias en términos de supervivencia (mediana de supervivencia de 9.1 vs 5.4 años, respectivamente, $p < 0,0001$). Asimismo, se generó una firma genética capaz de predecir recurrencia tumoral tardía (> 2 años) tras resección ($p < 0,003$). Ambas firmas son validadas en 225 pacientes manteniendo un elevado nivel de discriminación en términos de supervivencia ($p = 0,017$) y

recurrencia tardía ($p = 0,03$). La firmas incluyen genes relacionados con la respuesta inflamatoria (NFkB2, IFI30), estrés oxidativo (NOS2A y GPX2) y respuesta inmunitaria mediada por interferón.

Conclusiones: La nueva plataforma DASL permite analizar el transcriptoma a partir de tejido parafinado. El perfil de expresión genética obtenido del tejido cirrótico peritumoral predice supervivencia y recurrencia tardía tras resección, identificando un papel relevante del microambiente tumoral en la hepatocarcinogenesis.

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA TUMORAL EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC) TRAS TRATAMIENTO LOCO-REGIONAL: ¿ES EL CRITERIO RECIST ÚTIL?

A. Forner¹, C. Ayuso², M. Varela¹, A.J. Hessheimer¹, J. Rimola², M. Reig¹, C. Rodríguez de Lope¹, L. Bianchi², J.M. Llovet^{1,3} y J. Bruix¹

¹Servicio de Hepatología, IMDiM y ²Servicio de Radiología, CDI. Oncología Hepática (BCLC). Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBEREHD. Universidad de Barcelona, España. ³Mount Sinai Liver Cancer Program. Division of Liver Disease. Department of Medicine. Mount Sinai School of Medicine. New York. USA.

Introducción: La evaluación de la respuesta tras tratamiento es fundamental ya que la obtención de respuesta objetiva puede ser un marcador de mejoría de la supervivencia. El *National Cancer Institute* desarrolló el criterio *RECIST*, que constituye la herramienta habitualmente usada por Oncología. Sin embargo, *RECIST* evalúa únicamente el tamaño tumoral y no tiene en cuenta el grado de necrosis tumoral, que es el objetivo de la mayoría de los tratamientos loco-regionales utilizados en el CHC. Por este motivo, las guías de práctica clínica publicadas por la *EASL* recomiendan que la evaluación de la respuesta debe tener en cuenta la reducción de tumor viable determinado por la presencia de áreas sin captación de contraste mediante técnicas dinámicas de imagen. Este estudio evalúa el grado de concordancia entre ambos criterios para la evaluación de la respuesta tras tratamiento loco-regional.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 24 pacientes afectos de CHC tratados con TACE mediante unas esferas de PVA cargadas de doxorubicina (drug eluting beads; DEB-TACE) en el contexto de un ensayo fase 2 y 31 pacientes tratados con ablación percutánea (PEI/RF). Se realizó una TC dinámica basal y 1 mes y 6 meses después del tratamiento. La respuesta radiológica fue evaluada por dos radiólogos independientes.

Resultados: Se incluyeron 55 pacientes (38 varones, edad mediana 67 años, 39 HCV+, 47 Child-Pugh A). No hubieron diferencias significativas en edad, sexo, etiología y parámetros de laboratorio entre los dos grupos. Como se esperaba dado el estadio más avanzado, el número y la suma de diámetros fueron significativamente mayores en los pacientes tratados con DEB-TACE. La respuesta tumoral se resume en la siguiente tabla:

		Respuesta completa	Respuesta parcial	Enfermedad estable
DEB-TACE	RECIST	0	12	7
	EASL	7	11	1
PEI/RF	RECIST	0	0	19
	EASL	23	4	1

El grado de concordancia entre ambos criterios fue muy bajo (coeficiente kappa: 0,193; IC95%: 0,0893-0,2967; $p < 0,0001$).

Conclusiones: El criterio *RECIST* no detectó ninguna respuesta completa y subestimó la extensión de la respuesta parcial. Por tanto, su uso evaluó erróneamente la eficacia terapéutica de los tratamientos loco-regionales usados en el CHC. Por consiguiente, el criterio *RECIST* no debe ser usado para evaluar respuesta en el CHC y se debe recomendar criterios que tengan en cuenta el grado de necrosis tumoral, como el propuesto por *EASL*.

Hepatitis víricas

EVOLUCIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN FUNCIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL EN PACIENTES CON HEPATITIS C. UTILIDAD DE LA ELASTOGRAFÍA HEPÁTICA

J. Mendoza-Jiménez¹, E. Gómez-Domínguez², M. Trapero-Marugán¹, L. González-Moreno¹, J.A. Moreno-Monteagudo¹, L. García-Buey¹ y R. Moreno-Otero¹

¹Servicio de Aparato Digestivo. Unidad de Hepatología Hospital Universitario La Princesa. Universidad Autónoma de Madrid. ²Servicio de Aparato Digestivo. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: El tratamiento antiviral, especialmente el tratamiento combinado modifica la progresión de la fibrosis hepática (FH). Hasta el momento actual, la única forma de evaluar esta progresión era mediante biopsia hepática, una prueba mal aceptada por los pacientes. El desarrollo de técnicas no invasivas, como la Elastografía Hepática (EH), nos va a permitir un mejor conocimiento de la evolución de la enfermedad.

Objetivo: Evaluar mediante EH la evolución de la FH en pacientes con infección crónica por VHC sometidos a terapia antiviral.

Material y métodos: Estudio prospectivo, realizado en pacientes con infección crónica por VHC, sometidos a tratamiento antiviral (Interferón -IFN- en monoterapia o terapia combinada con IFN o PEG-IFN y Ribavirina). Se realizó evaluación de la FH pretratamiento mediante biopsia hepática (según METAVIR) y post-tratamiento mediante elastografía hepática. (Puntos de corte para F>2: 7,1 KPa; F>3: 9,5 KPa y F = 4: 12,5 KPa, según datos de la literatura)

Resultados: Se incluyeron 64 pacientes (EM: 48,2 ± 9,4 años, 67,2% hombres, IMC medio: 26,1 ± 3,7; 84,4% genotipo 1; 23,4% IFN en monoterapia; 31,3% IFN+Ribavirina 45,3% PEG-IFN+Ribavirina). 16 pacientes fueron respondedores frente a 48 no respondedores con un tiempo medio de evolución de 48,2 meses en respondedores vs 65,5 meses en no respondedores (p = 0,09). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre respondedores y no respondedores en los niveles de transaminasas, en los valores de EH al final del tratamiento (6,46KPa en respondedores vs 10,1 KPa en no respondedores; p < 0,005). Se observó empeoramiento en el estadio de FH en 1 respondedor vs 17 en no respondedores y mejoría del estadio de FH en 11 vs 15 de los no respondedores (p < 0,05)

Se evaluó la progresión de FH mediante curvas de Kaplan-Meier, sin observar diferencias significativas entre ambos grupos, ni en función del tratamiento recibido, si bien se puede observar una ausencia de progresión de la FH en el grupo de respondedores frente a los no respondedores.

Conclusiones: 1. La EH es un método no invasivo eficaz en la evaluación de la FH en pacientes con hepatitis C. 2. El tratamiento antiviral produce una mejoría en el estadio de FH evaluada mediante EH. 3. Estudios más amplios, con un grupo extenso de respondedores ayudará en el futuro a una mejor comprensión de la evolución de la FH en pacientes tratados con terapia antiviral.

ANÁLISIS DEL EFECTO DEL SEROTIPO Y LA ESTRUCTURA GENÓMICA DE LOS VIRUS ADENOASOCIADOS (AAV) RECOMBINANTES EN LA TRANSDUCCIÓN HEPÁTICA

A. Paneda^a, L. Vanrell^a, I. Mauleon^a, J.S. Crettaz^a, P. Berraondo^a, E.J. Timmermans^b, J. Twisk^b, S. van Deventer^b, J. Prieto^a, A. Fontanellas^a, M.S. Rodríguez-Pena^b y G. González-Aseguinolaza^a

^aGene Therapy and Hepatology, FIMA, Pamplona, Navarra, Spain.

^bAmsterdam Molecular Therapeutics(AMT), Amsterdam, Netherlands.

El hígado es un órgano muy atractivo para la terapia génica debido al papel que juega en importantes enfermedades tanto hereditarias como adquiridas. Los AAV se han distinguido en los últimos años como vectores virales muy prometedores para la transferencia génica debido a su reducida toxicidad, y su capacidad para transducir de

forma duradera células quiescentes, aspecto muy importante para la terapia génica hepática. El tropismo de los vectores AAV recombinantes depende del serotipo al cual pertenezca la proteína de la cápside. En este estudio hemos comparado la capacidad de los serotipos 1, 5, 6, y 8 para transducir el hígado de ratones. También hemos comparado el efecto que tiene la estructura genómica del AAV (cadena sencilla o cadena doble de DNA). El análisis fue realizado utilizando un método basado en la cuantificación de la intensidad de luz mediado por la expresión del gen de la luciferasa y la administración de un sustrato luminiscente, la luciferina. Al final del estudio los animales fueron sacrificados y la biodistribución de los diferentes serotipos analizada ex vivo.

Ratones BALB/c machos y hembras recibieron por vía intravenosa 5 x 10¹² genomas virales por kg de peso de los virus AAV 1,5,6 y 8 portando genomas de cadena sencilla (single stranded: ss) y cadena doble (double stranded: ds) que codifican el gene de la luciferasa bajo el control de un promotor de expresión ubicua. El análisis mostró que el mejor serotipo para la transducción hepática era el serotipo 8 tanto para la versión ss como ds y tanto en hembras como en machos. En todos los casos el AAV portador del genoma de ds es más eficiente que el de ss y la velocidad de transducción es más alta. Encontramos diferencias significativas dependientes del sexo de los animales para todos los serotipos tanto para los de genoma de ss como ds, las diferencias mas dramáticas las encontramos para los serotipos 5 y 6 portadores de genoma ds.

En cuanto a la biodistribución el análisis de la expresión de luciferasa en los distintos órganos muestra diferencias significativas dependientes no solo del serotipo sino sorprendentemente de la estructura genómica del vector. Como era de esperar encontramos los niveles mas altos de expresión de luciferasa en el hígado de ratones hembras y machos que han recibido el AAV serotipo 8. Además detectamos expresión de luciferasa en los ovarios de los ratones inyectados con AAV1 y AAV8 siendo significativamente más alta en los ratones que han recibido el virus de ss.

En resumen, nuestros resultados muestran que todos los serotipos de AAV analizados son capaces de transferir material génico al hígado y transducirlo durante largos periodos de tiempo a niveles sostenidos siendo el serotipo óptimo el 8. Encontramos diferencias significativas en el nivel de expresión y en la biodistribución dependiendo de la estructura genómica y el sexo de los animales que deben ser tenidas en cuenta a la hora de utilizar este vector.

¿INFLUYE LA ELECCIÓN DE NUCLEÓSIDOS EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON PEG-IFN Y RIBAVIRINA EN LOS PACIENTES VIH CON HEPATITIS C?

A. Moreno¹, C. Queda¹, A. Muriel², M.J. Pérez-Elías¹, J.L. Casado¹, F. Dronda¹, J. Zamora², M.L. Mateos³, A. Moreno⁴, R. Bárcena⁵, E. Navas¹ y S. Moreno¹

Servicios de Enfermedades Infecciosas¹, Bioestadística Clínica², Microbiología³, Anatomía Patológica⁴, y Gastroenterología⁵. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Actualmente está muy debatido el posible papel desfavorable de los análogos de nucleósido (NRTIs) en la eficacia del tratamiento con peg-IFN y ribavirina (RBV) en pacientes VIH con hepatitis C, atribuido a sus interacciones con RBV a nivel del metabolismo intracelular.

Métodos: Se evaluó, mediante análisis individuales de regresión logística ajustados por potenciales variables de confusión (carga viral VIH, recuento de CD4, carga viral VHC, genotipo, severidad histológica -definida como F ≥ 3-, y cifras basales de GPT y GGT) el efecto de la utilización de abacavir (ABC), tenofovir (TDF), o el uso de 3 NRTI en la tasa de respuesta viral sostenida (RVS) en 174 pacientes consecutivos, Ags VHB (-), sin tratamiento previo frente al VHC, que iniciaron su primer ciclo de peg-IFN y RBV ajustada a peso. Además, se evaluaron para toda la cohorte los factores predictores de RVS, mediante análisis univariante y multivariable de regresión logística.

Resultados: La distribución de peg-IFN fue similar: Peg-IFN-alfa-2a, 53%, Peg-IFN-alfa-2b, 47%. La dosis media de RBV fue 14,7 ±

2,4 mg/kg/día. La mayoría eran varones (76%), con antecedentes de uso de drogas por vía parenteral (87%), y una mediana de edad de 40 años (28-63). La mediana de duración de la infección por VHC fue 21 años, y 102 (59%) tenían genotipo 1 ó 4. La mayoría (82%) recibían tratamiento antirretroviral de gran eficacia, principalmente con inhibidores de proteasa ($n = 70$, 49%), o no nucleósidos ($n = 45$, 31,5%); globalmente, se usó TDF en 69 (48%), ABC en 56 (39%), y 3 NRTIs en 25 (18%) pacientes, respectivamente. Las medianas basales de CD4 y carga viral VHC fueron 513 células/ml y $5,8 \log_{10}$ UI/ml, respectivamente; 67% tenían carga viral VIH $< 1,7 \log_{10}$ copias/ml. La tasa global de RVS fue del 45% ($n = 79$). Después de cada uno de los análisis individuales de regresión, no encontramos asociación estadísticamente significativa entre el uso de ABC ($p = 0,597$), TDF ($p = 0,919$) o 3 NRTI ($p = 0,124$) y la obtención de RVS. En el análisis univariable, los factores asociados a RVS fueron la carga viral basal del VHC ($p = 0,0001$), el genotipo ($p = 0,0001$), el grado de fibrosis ($p = 0,036$), la cifra basal de CD4 ($p = 0,035$), y una cifra de GGT ≥ 100 U/l ($p = 0,004$). En el análisis multivariable, los factores predictores de ausencia de RVS fueron la presencia de genotipo 1 ó 4 (OR 7.801, 95%CI 2.653-22.932, $p = 0,0001$), los niveles basales de carga viral VHC (OR 3.540, 95%CI 1.704-7.353, $p = 0,001$), y el grado de fibrosis (OR 1.789, 95%CI 1.211-2.644, $p = 0,003$).

Conclusiones: En nuestra cohorte de pacientes coinfectados VIH/VHC, el uso de ABC, TDF ó 3 NRTIs no influyó de forma significativa en la tasa de RVS en pacientes que iniciaron su primer ciclo de tratamiento con peg-IFN y RBV ajustada al peso. Fueron factores independientes de fracaso terapéutico la infección por genotipo 1 ó 4, niveles basales elevados de carga viral VHC, y el grado de severidad histológica.

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS Y FACTORES PREDICTORES DE FIBROSIS SEVERA EN PACIENTES VIH CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C EN LA ERA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DE GRAN ACTIVIDAD (TARGA)

A. Moreno¹, S. Diz¹, A. Moreno², L. Moreno¹, A. Muriel³, C. Quereda¹, M.J. Pérez-Eliás¹, R. Bárcena⁴, A. Royuela³, A. López-San Román⁴, F. García-Hoz⁴, L. Gil-Grande⁴, M. García-González⁴, C. Rodríguez Martín⁴ y S. Moreno¹
Servicios de Enfermedades Infecciosas¹, Anatomía Patológica², Bioestadística Clínica³, Gastroenterología⁴ Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción: Después de la introducción del TARGA, la hepatopatía por virus C (VHC) es una de las causas principales de morbimortalidad en los pacientes VIH. Está por definir el impacto de factores epidemiológicos y relacionados con el TARGA sobre la severidad histológica.

Métodos: Entre Enero 1998-Mayo 2007, se realizó biopsia hepática (BH) en 323 pacientes consecutivos, Ags VHB (-), no tratados frente al VHC. Nuestro objetivo fue describir los hallazgos de la BH, y evaluar los factores predictores de severidad histológica ($F \geq 3$) en el momento de la BH.

Resultados: La mayoría eran varones (75%), con antecedentes de adicción a drogas por vía parenteral (ADVP) (87%), edad 40 ± 5 años, genotipo 1 ó 4 en 254 (80%), con diagnóstico previo de SIDA en 100 (31%), y un nadir de CD4 (mediana) de 177 células/ml (2-888); 51% habían recibido tanto inhibidores de proteasa (IP) como no nucleósidos (NNRTI). La mediana de tiempo en IP ó NNRTI fue 34 (1-108) y 18 (1-92) meses. En el momento de la BH, la mediana de tiempo de infección por VHC y de CD4 fueron 20 años y 484 células/ml, respectivamente; 64% tenían carga viral VIH $< 1,7 \log_{10}$ copias/ml; la mayoría (86%) recibían TARGA, principalmente con IP (35%) ó NNRTI (34%). Las cifras basales de transaminasas (mediana) fueron: GOT 56 U/l (12-909), GPT 75 U/l (11-578), GGT 141 U/l (12-2076), FA 100 U/l (36-4388). La mediana del índice de actividad histológica (IAH) fue 6, y la distribución de la fibrosis: F0 ($n = 29$, 9%), F1 ($n = 121$, 38%), F2 ($n = 61$, 19%), F3 ($n = 69$, 21%), F4 ($n = 43$, 13%). En el análisis univariable, la presencia de fibrosis severa (F3/F4) se asoció con cifras de GGT ≥ 100 U/l ($p = 0,007$), haber tenido un nadir de CD4 < 200 células/ml ($p = 0,037$) y, en el momento de la BH, la cifra ba-

sal de CD4 ($p = 0,001$), actividad de protrombina ($p = 0,0001$), albúmina ($p = 0,0001$), bilirrubina ($p = 0,0001$), GOT ($p = 0,0001$), GPT ($p = 0,03$), GGT ($p = 0,021$), FA ($p = 0,0001$), y recuento de plaquetas (0,0001). No hubo asociación con el antecedente de ADVP ($p = 0,09$), edad ($p = 0,06$), sexo ($p = 0,35$), SIDA previo ($p = 0,06$), tiempo de infección por VHC (0,090), exposición ó tiempo en IP ($p = 0,1$ y 0,074) ó NNRTI ($p = 0,8$ y 0,47), la presencia aislada de Ac anticore VHB ($p = 0,58$), genotipo VHC ($p = 0,48$), ó los niveles de RNA-VHC ($p = 0,69$). Tras análisis multivariable, se asociaron de forma independiente a la presencia de fibrosis severa la edad (OR 1.075, 95%CI 1.022-1.131, $p = 0,005$), el antecedente de ADVP (OR 2.316, 95%CI 1.037-5.170, $p = 0,04$), y en el momento de la BH, GGT ≥ 100 U/l (OR 2.057, 95%CI 1.232-3.436, $p = 0,006$), y menor recuento de CD4 (OR 0,999, 95%CI 0,998-1, $p = 0,004$).

Conclusiones: En nuestra cohorte, la BH mostró fibrosis severa en un 34% de los casos, que se asoció de forma independiente a la edad, historia de ADVP, GGT ≥ 100 U/l, y menor recuento de CD4. Ni la exposición, ni el tiempo con IP ó NNRTI tuvieron un impacto significativo en la severidad histológica.

SOBRE-EXPRESIÓN DE LA MOLÉCULA CO-ESTIMULADORA NEGATIVA PD1 EN LA POBLACIÓN CELULAR CITOTÓXICA DURANTE LA INFECCIÓN PERSISTENTE POR VHC

S. Benito^a, J.R. Larrubia^{a,b}, E. Sanz de Villalobos^b, M. Calvino^a, M.L. García-Buey^c, S. García-Garzón^b, F. González-Mateos^b, A. González-Praetorius^d, J. Miquel^b, A. Bienvenido^b y T. Parra^a
^aUnidad de Investigación, ^bSección de Aparato Digestivo y ^dServicio de Microbiología. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. ^cServicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de La Princesa Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: La molécula co-estimuladora negativa PD1 desactiva las capacidades efectoras de la respuesta celular citotóxica mediante la interacción con su ligando PD-L1. La inducción de la expresión de esta molécula en las células CD8+ podría ser un eficaz mecanismo de escape inmunológico del VHC. En este estudio se analiza la frecuencia de células CD8+/PD1+ intrahepáticas y de sangre periférica en función de la carga viral del VHC.

Material y métodos: Se estudiaron 39 pacientes divididos en tres grupos: Grupo A (12 sujetos control no infectados por VHC), Grupo B (15 pacientes con hepatitis crónica por VHC (HCC) no tratados [RNA VHC+, ALT elevadas]), Grupo C (12 pacientes con HCC que desarrollaron respuesta virológica sostenida (RVS) tras tratamiento con PEG-interferon- $\alpha 2b$ más ribavirina [RNA VHC-, ALT normal]) y Grupo D (7 pacientes con HCC que no desarrollan RVS tras el tratamiento [RNA VHC+, ALT elevadas]). Mediante gradiente de Ficoll-Hypaque se obtuvieron células mononucleares (CM) de sangre periférica (SP) de todos los grupos. Se extrajeron CM intrahepáticas (IH) en 7 pacientes del grupo B mediante digestión de un fragmento del cilindro de biopsia hepática con DNAasa y colagenasa-I. Las CMSP y las CMIH se marcaron con anticuerpos anti-CD8-PE, anticuerpos anti-PD1-FITC y anticuerpos anti-PDL1 y se analizaron mediante citometría de flujo. Las comparaciones entre los distintos grupos se realizaron con los tests estadísticos no paramétricos apropiados.

Resultados: La frecuencia de células CD8+/PD1+ en los pacientes con HCC no tratados era mayor ($14,7\% \pm 4,9$) que en el grupo control ($5\% \pm 2,3$) ($p < 0,001$). Sin embargo, los pacientes que desarrollaron una RVS tenían una frecuencia de células CD8+/PD1+ ($8,6\% \pm 4,7$) inferior a los pacientes no tratados ($p < 0,05$) y similar al grupo control. En cambio, en los pacientes tratados sin RVS la frecuencia de células CD8+/PD1+ seguía manteniéndose elevada ($16,5\% \pm 9,3$) ($p < 0,05$). Además, se observó un secuestro intrahepático de la población celular CD8+/PD1+ en los pacientes con HCC, con una frecuencia 4 veces superior en el hígado ($53,7\% \pm 7,2$) que en SP ($p < 0,05$). Este hallazgo se asociaba a una elevada frecuencia de células intrahepáticas CD8(-) que expresaban PD-L1.

Conclusiones: La infección persistente por VHC induce la expresión de la molécula co-estimuladora negativa PD-1 en las células CD8+. El hígado está enriquecido en células citotóxicas que expre-

san PD1 y células CD8+/PD-L1+. El desarrollo de RVS tras tratamiento antiviral con PEG-interferon- α 2b más ribavirina permite restaurar una frecuencia baja de células CD8+/PD1-, lo que puede contribuir en la obtención del control viral.

LA RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA TRAS TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA POR VHC SE ASOCIA AL DESARROLLO DE UN RESERVORIO CELULAR CITOTÓXICO CON FENOTIPO “MEMORIA CENTRAL”

S. Benito^a, J.R. Larrubia^{a,b}, E. Sanz-de-Villalobos^b, M. Calvino^a, M.L. García-Buey^c, S. García-Garzón^b, F. González-Mateos^b, A. González-Prætorius^d, J. Miquel^b, A. Bienvenido^b y T. Parra^a

^aUnidad de Investigación y ^bServicios de Aparato Digestivo y

^cMicrobiología. Hospital Universitario Guadalajara. Universidad de Alcalá. ^dServicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de La Princesa. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: Se ha demostrado la existencia de reservorios del VHC en sujetos con control de la infección mediante inmunidad natural o tras respuesta terapéutica sostenida. El desarrollo de una respuesta celular citotóxica VHC específica tipo “memoria central” podría tener un importante papel para controlar de forma indefinida estos reservorios. En este estudio se analizan la características funcionales y fenotípicas de tipo “memoria central” de las células CD8+ VHC específicas en diferentes momentos de la infección por VHC.

Material y métodos: Estudio transversal. Se reclutaron 32 sujetos consecutivos HLA A2(+) con infección crónica por VHC en distintas situaciones clínicas (12 pacientes no tratados, 10 sujetos con respuesta virológica sostenida (RVS) tras tratamiento con PEG-interferon- α 2b y ribavirina y 10 pacientes sin respuesta al tratamiento). En todos ellos se estudió la respuesta citotóxica específica contra el epítipo del VHC NS3₁₄₀₆₋₁₄₁₅. Las células CD8+ NS3₁₄₀₆₋₁₄₁₅ específicas se visualizaron mediante marcaje con complejos pentaméricos HLA-A2/NS3₁₄₀₆₋₁₄₁₅ (Pent). El fenotipo de “memoria central” se analizó mediante marcaje con anticuerpos anti-CCR7, anti-CD45RO, anti-CD28 y anti-PD1. Se estudió la capacidad de producción de g-interferon de las células CD8+/Pent+ mediante tinción intracelular de citoquinas. También se evaluó la capacidad de proliferación de las células CD8+/Pent+ tras estimulación antígeno específica. Todos los análisis se realizaron mediante citometría de flujo. Se utilizaron tests no paramétricos para las distintas comparaciones.

Resultados: La frecuencia de células CD8+/Pent+ en sangre periférica fue muy baja y de similar intensidad en todos los grupos estudiados. En los pacientes con RVS el análisis fenotípico directamente *ex-vivo* de las células CD8+/Pent+ fue: CCR7^{alto}/CD45RO^{alto}/PD1^{bajo}/CD28^{alto}. Estas células eran capaces de proliferar, producían g-interferon y modificaban su fenotipo a “memoria efector” tras el encuentro antigénico. En los pacientes tratados no respondedores las células CD8+/Pent+ expandían menos frecuentemente ($p < 0,05$) y presentaban un fenotipo asociado a anergia (PD1+) ($p < 0,05$). En el grupo no tratado las células CD8+/Pent+ expandían muy infrecuentemente ($p < 0,01$).

Conclusión: El control del VHC tras tratamiento se asocia al desarrollo de un reservorio periférico de células CD8+ VHC específicas con fenotipo “memoria central”. Las características de estas células pueden ofrecer una protección a largo plazo contra la reactivación o reinfección por VHC.

CARACTERÍSTICAS BASALES Y RESPUESTA VIRAL PRECOZ AL TRATAMIENTO CON TELBIVUDINA PREDICEN LA RESPUESTA A DOS AÑOS EN PACIENTES CON HEPATITIS B CRÓNICA HBEAG NEGATIVO (ESTUDIO GLOBE)

S. Zeuzem¹, M. Buti², M. Diago³ y M. Rodríguez-García⁴ en nombre del grupo de estudio GLOBE.

¹University Hospital Hamburg/Saar. ²Hospital Universitario Vall d'Hebrón. Barcelona. ³Hospital General de Valencia. Valencia.

⁴Hospital General de Asturias, Oviedo.

Introducción: La predicción de la respuesta al tratamiento a partir de los datos basales y de respuesta precoz, es una herramienta de

gran utilidad para la individualización del manejo terapéutico de los pacientes con hepatitis B crónica (HBC). Se han sugerido mejores resultados en los pacientes con ADN del VHB basal $< 7 \log_{10}$ copias/mL. Por otro lado la carga viral a las 24 semanas fue el factor predictivo de respuesta a los dos años más significativo. Se analizan los datos de eficacia y predictibilidad de la respuesta a dos años, en pacientes HBeAg-negativo con ADN-VHB basal $< 7 \log_{10}$ copias/mL.

Métodos: Se llevó a cabo un análisis de regresión logística para identificar y evaluar las variables basales y de respuesta precoz al tratamiento, como factores predictivos de la eficacia a los 2 años en el subgrupo de pacientes con ADN-VHB basal $< 7 \log_{10}$ copias/mL en el estudio GLOBE. Este grupo estuvo formado por 194 pacientes HBeAg negativo con hepatitis crónica B compensada, que habían recibido telbivudina ($n = 91$) o lamivudina ($n = 103$) durante 2 años..

Resultados: En el grupo con ADN-VHB basal $< 7 \log$ copias/mL, el porcentaje de pacientes con PCR negativa (< 300 copias/mL) en la semana 104 fue significativamente mayor en el grupo telbivudina vs lamivudina, 89% vs 66% ($P < 0,0001$) respectivamente. También un porcentaje superior de pacientes tratados con telbivudina normalizaron las transaminasas, 82% vs 78% ($P = 0,54$). La aparición de resistencia ($1 \log > \text{nadir}$ con mutaciones confirmadas) se observó en un 3% vs 21% ($P = 0,0001$), respectivamente. Entre los pacientes que en la semana 24 mostraron respuesta virológica precoz, definida com PCR negativa, la tasa de respuesta a los 2 años fue mayor en los dos brazos, siendo el porcentaje significativamente superior en el grupo telbivudina (95% vs 81% lamivudina; $p = 0,047$). La respuesta a los 2 años en este grupo de pacientes fue: PCR negativa mantenida en el 91%, ALT normales en el 83% y sólo un 2% desarrollaron resistencias.

Conclusiones: En los pacientes HBeAg-negativo con ADN-VHB basal $< 7 \log_{10}$ copias/mL, la tasa de respuesta sostenida es alta y la aparición de resistencias baja a los 2 años de iniciar tratamiento con telbivudina. La respuesta viral precoz a las 24 semanas es un factor predictivo de eficacia a largo término en los pacientes tratados con telbivudina y debe jugar un papel importante en el manejo terapéutico de los pacientes con HBC HBeAg-negativo.

IMPACTO DEL TRATAMIENTO ANTIVIRAL SOBRE MARCADORES NO INVASIVOS DE FIBROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C

S.M. Martínez^a, G. Fernández-Varo^b, M. Domínguez^a, R. Bataller^a, E. Sampson^c, W. Jiménez^b, J.M. Sánchez-Tapias^a y X. Forns^a

^aUnidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. ^bServicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic, IDIBAPS, Ciberehd, Barcelona. ^cSiemens Medical Solutions, NY, USA.

Introducción: En pacientes con hepatitis crónica por virus C se ha demostrado una reducción en la progresión de la fibrosis hepática tras la respuesta virológica al tratamiento antiviral. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del tratamiento antiviral sobre marcadores no invasivos de fibrosis hepática en una cohorte de pacientes con hepatitis crónica C.

Métodos: El estudio incluyó 130 pacientes tratados con interferón pegilado más ribavirina. En todos estos pacientes se realizó una biopsia hepática basal y se determinaron (basalmente y a 6 meses de finalizar el tratamiento): ácido hialurónico (HA), colágeno IV (Col4), propéptido amino-terminal de colágeno tipo III (PIIINP), inhibidor tisular de la metaloproteínasa de matriz (TIMP-1). Estos marcadores fueron combinados en dos algoritmos diferentes: ELF (edad, PIIINP, TIMP-1 y HA) y 4 Marker (PIIINP, TIMP-1, Col4 y HA) (Rosenberg et al. Gastroenterol 2004). El rendimiento diagnóstico de ambos algoritmos para fibrosis significativa ($F \geq 2$) y cirrosis ($F4$) fue evaluado basalmente mediante el área bajo la curva ROC (AUROC).

Resultados: Un total de 55 pacientes (42%) fueron no respondedores (NR) mientras que 75 (58%) obtuvieron una respuesta virológica sostenida (RVS). Utilizando los algoritmos ELF y 4 Marker, el

AUROC para diagnóstico de $F \geq 2$ fue de 0,81 y 0,81, respectivamente y para $F4$ de 0,81 y 0,80, respectivamente. Los valores basales y post-tratamiento de estos algoritmos en relación a la RVS se describen en la tabla 1. En pacientes que lograron RVS los valores basales de ambos algoritmos se redujeron significativamente, mientras que permanecieron estables en pacientes no respondedores.

Marcador	Respuesta virológica	Basal (media, rango)	Post- tratamiento (media, rango)	p
ELF	RVS (n = 75)	0,53 (-1,95-2,70)	0,11 (-1,4-2,54)	< 0,000
	NR (n = 55)	0,62 (-0,99-3,27)	0,52 (-2,48-3,11)	NS
4 Marker	RVS (n = 75)	0,44 (-2,50-2,96)	-0,08 (-1,88-2,98)	< 0,000
	NR (n = 55)	0,54 (-1,33-3,79)	0,44 (-2,63-3,71)	NS

Conclusiones: Los marcadores de fibrosis pueden identificar la presencia de fibrosis significativa y cirrosis de forma precisa en una proporción significativa de pacientes. La RVS se asocia a una reducción significativa de estos marcadores, lo que probablemente refleje una mejoría histológica. A falta de validación en otros estudios, estos resultados apoyan el uso de marcadores no invasivos de fibrosis para el seguimiento de pacientes con hepatitis crónica C.

EFICACIA DE INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN PACIENTES COINFECTADOS POR VIH/VHC EN TRATAMIENTO CONCOMITANTE CON ABACAVIR MÁS LAMIVUDINA O TENOFOVIR MÁS LAMIVUDINA O EMTRICITABINA COMO PAREJA DE ANÁLOGOS DE NUCLEÓ(T)IDOS

J.A. Mira^a, L.F. López-Cortés^b, P. Barreiro^c, C. Tural^d, M. Torres-Tortosa^e, I. de los Santos Gil^f, P. Martín-Rico^g, M.J. Ríos-Villegas^h, J.J. Hernández-Burruezoⁱ, D. Merino^j, J. Macías^a, P. Viciano^b, V. Soriano^c y J.A. Pineda^a

^aUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Univ. de Valme, Sevilla. ^bServicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Univ. Virgen del Rocío, Sevilla. ^cServicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Carlos III, Madrid. ^dUnidad Clínica VIH, Hospital Univ. Germans Trias i Pujol, Badalona. ^eSección de Enfermedades Infecciosas, Hospital Punta Europa, Algeciras. ^fServicio de Medicina Interna- Infecciosas, Hospital Univ. de la Princesa, Madrid. ^gServicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Univ. Carlos Haya, Málaga. ^hUnidad de Enfermedades Infecciosas, Hosp. Univ. Virgen Macarena, Sevilla. ⁱUnidad de Enfermedades Infecciosas, Complejo Hospital de Jaén, Jaén. ^jServicio de Medicina Interna, Hosp. Juan Ramón Jiménez, Huelva.

Introducción: El uso concomitante de abacavir (ABC) ha sido asociado con una menor tasa de respuesta virológica al tratamiento con interferón pegilado (INF-PEG) y ribavirina (RBV) en la población coinfectada por el VIH y el VHC. Sin embargo, en la mayoría de los estudios que han proporcionado información sobre este aspecto, ABC fue administrado junto con zidovudina, lo cual podría haber reducido las posibilidades de conseguir una respuesta virológica sostenida (RVS) en los sujetos tratados con ABC.

Objetivo: Comparar la eficacia del tratamiento con INF-PEG y RBV en pacientes coinfectados por VIH/VHC en tratamiento anti-retrovírico (TAR) concomitante con ABC más lamivudina (3TC) con la observada en los tratados con tenofovir (TDF) más 3TC o emtricitabina (FTC).

Pacientes y métodos: Estudio multicéntrico en el que se incluyeron aquellos pacientes coinfectados por VIH/VHC que recibieron INF-PEG y RBV desde octubre de 2001 a enero de 2006 que hubieran recibido un TAR concomitante de tres fármacos incluyendo un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleosidos o un inhibidor de la proteasa, junto con ABC más 3TC ó TDF más 3TC ó FTC como pareja de inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleos(t)idos (ITIANs). Se realizó una comparación de la tasa de RVS (ARN-VHC indetectable 24 semanas después de finalizar INF-PEG y RBV) obtenida por ambas parejas de ITIANs, así como un análisis de regresión logística para determinar las variables asociadas con una RVS.

Resultados: En un análisis por intención de tratar, 20 (29%) de los 70 enfermos que recibieron ABC alcanzaron una RVS, mientras que ésta se alcanzó en 83 (45%) de los 186 individuos tratados con TDF ($p = 0,02$). Un TAR con TDF más 3TC ó FTC como pareja de ITIANs (Odds Ratio Ajustada 2,6; IC 95%, 1,05-6,9; $p = 0,03$) se asoció independientemente con una RVS en el análisis multivariante. La asociación entre el uso de ABC y una menor tasa de RVS fue observada principalmente en individuos con genotipos 1 ó 4, un nivel basal de ARN-VHC > 600.000 copias/mL y en los que recibieron menores dosis de RBV por peso. Así, entre los pacientes que recibieron dosis de RBV < 13,2 mg/kg/día, 3 (20%) de los tratados con ABC y 22 (52%) de los que recibieron TDF consiguieron una RVS ($p = 0,03$), mientras los porcentajes fueron 31% y 38% ($p = 0,4$), respectivamente, en aquellos sujetos tratados con dosis de RBV $\geq 13,2$ mg/kg/día.

Conclusiones: Los individuos coinfectados por VIH/VHC que reciben un TAR de tres fármacos basado en ABC más 3TC responden peor a la terapia con INF-PEG y RBV que los que son tratados con TDF más 3TC ó FTC. Las diferencias observadas entre ambas parejas de ITIANs son especialmente relevantes en pacientes que reciben menores dosis de RBV por peso y en los que necesitan ser tratados con dosis mayores de RBV. Estos hallazgos sugieren una interacción negativa entre ABC y RBV.

MEJORÍA EN LA DISCRIMINACIÓN ENTRE FIBROSIS HEPÁTICA LEVE Y SIGNIFICATIVA EN PACIENTES COINFECTADOS POR VIH/VHC MEDIANTE ELASTOMETRÍA TRANSITORIA

J. del Valle^a, J. Macías^a, P. Barreiro^b, A. Rivero^c, A. Gutiérrez^d, M.J. Ríos-Villegas^e, D. Merino^f, M. González-Serrano^g, E. Vispo^b, E. Recio^a, J. Gómez-Mateos^a y J.A. Pineda^a

^aH. U. de Valme, Sevilla. ^bH. Carlos III, Madrid. ^cH. U. Reina Sofía, Córdoba. ^dH. U. Virgen del Rocío, Sevilla. ^eH. U. Virgen Macarena, Sevilla. ^fH. Juan Ramón Jiménez, Huelva. ^gH. U. Virgen de la Victoria, Málaga.

Introducción: La elastometría transitoria (ET) es muy fiable para la detección de cirrosis hepática ($F = 4$) en pacientes coinfectados por el VIH y el VHC. No obstante, presenta menos precisión para discriminar la fibrosis hepática leve ($F \leq 1$) de la significativa ($F \geq 2$). Utilizando el punto de corte de 7,2 kPa, propuesto por otros autores, un 24% de los pacientes coinfectados por VIH/VHC se clasificarían como $F \leq 1$ de acuerdo con la ET, mientras que muestran $F \geq 2$ en la biopsia hepática (BH). Empleando este punto de corte para guiar decisiones de tratamiento anti-VHC, se excluirían una proporción alta de pacientes con indicación de terapia. El objetivo de nuestro estudio fue elaborar y validar nuevos puntos de corte de rigidez hepática (RH) que discriminen mejor $F \leq 1$ de $F \geq 2$ en pacientes coinfectados por VIH/VHC.

Métodos: Se realizaron medidas de RH en 197 pacientes coinfectados que habían sido sometidos a BH en los 12 meses anteriores o posteriores, sin tratamiento anti-VHC entre la BH y la ET.

Resultados: El área bajo la curva (intervalo de confianza del 95%) fue de 0,86 (0,78-0,93) para $F \geq 2$. Para el diagnóstico de $F \geq 2$, el valor de corte de 9,0 kPa mostró un valor predictivo positivo del 87%. Cinco (12,5%) pacientes fueron mal clasificados aplicando este punto de corte en el grupo de validación. Para descartar $F \geq 2$, el valor de corte de 6,0 kPa mostró un valor predictivo negativo del 90%. Cinco (15%) pacientes fueron mal clasificados al aplicarlo al grupo de validación. Considerando los pacientes de forma global, 61 (31%) de ellos presentaban valores de RH $\leq 6,0$ kPa y 81 (41%) valores de RH $\geq 9,0$ kPa. Cincuenta y cinco (28%) pacientes mostraron valores indeterminados. Ninguno de los pacientes con valores $\leq 6,0$ kPa en la ET presentaron $F \geq 3$ en la BH. Asimismo, ninguno de los pacientes con valor de RH $\geq 9,0$ kPa presentaba $F = 0$ en la BH.

Conclusiones: La precisión diagnóstica de la ET para discriminar $F \leq 1$ de $F \geq 2$ puede ser mejorada mediante la combinación de dos puntos de corte diferentes. El valor de RH $\leq 6,0$ kPa es diagnóstico de $F \leq 1$, mientras que el valor de RH $\geq 9,0$ kPa clasifica a los pacientes con $F \geq 2$ de forma más precisa, en comparación con el valor de corte único de 7,2 kPa propuesto anteriormente. Mediante la utilización de estos dos valores de corte la mayoría de los pacientes

coinfectados por VIH/VHC pueden ser clasificados y no precisarían de BH. Sólo aquellos con valores indeterminados necesitarían procedimientos invasivos.

ESTIMACIÓN DE LA MORBILIDAD, MORTALIDAD Y COSTES ASOCIADOS A LA EVOLUCIÓN DE LA HEPATITIS CRÓNICA B EN ESPAÑA

M. Buti^a, M. Brosa^b, M.A. Casado^c, Rueda^d y R. Esteban^a

^aHepatología, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona, ^bOblikue Consulting, Barcelona, ^cPharmacoeconomics & Outcomes Research Iberia, Madrid, ^dDepartamento Médico, Gilead Sciences Inc, Madrid.

Existen escasos estudios que estimen la progresión y el impacto futuro sobre la morbilidad, mortalidad y costes asociados a la hepatitis crónica B (HCB) y a sus complicaciones en nuestro país.

Objetivo: Estimación de la morbilidad, mortalidad y costes en una cohorte de pacientes infectados por el virus de la hepatitis B (VHB) sin tratamiento en España durante los próximos 20 años.

Diseño y métodos: Se ha elaborado un modelo de Markov para proyectar las complicaciones y costes asociados a la HCB en los próximos 20 años en una cohorte hipotética de 132.029 pacientes (correspondería al 100% de la población actualmente infectada por el VHB en nuestro país en 2007). La cohorte se estratificó en función de la edad, el estado del HBeAg y la severidad de la lesión hepática. Las probabilidades de progresión, el coste de la enfermedad y de sus complicaciones (costes sanitarios directos) se obtuvieron de datos publicados en la literatura. Se aplicó una tasa de descuento a los costes del 3,5%.

Resultados: El coste por paciente (porcentaje sobre el coste global por paciente) y el número de pacientes (porcentaje sobre el total de pacientes) en cada estadio en el año 2007 (año 0), 2017 (año 10) y 2027 (año 20) para la cohorte global se muestran en la tabla:

	2007		2017		2027	
	Coste por paciente (%)	Pacientes (%)	Coste por paciente (%)	Pacientes (%)	Coste por paciente (%)	Pacientes (%)
HCB	0	110.885 (84)	950 (6)	63.369 (48)	1.186 (4)	39.831 (30)
Cirrosis	0	21.144 (16)	531 (3)	17.475 (13)	745 (3)	7.660 (6)
Morbilidad*	0	0 (0)	13.063 (87)	14.858 (11)	24.891 (89)	12.902 (10)
Mortalidad	0	0 (0)	655 (4)	36.327 (28)	1.240 (4)	71.636 (54)
TOTAL	0	0 (0)	15.199 (100)	132.029 (100)	28.062 (100)	132.029 (100)

*Cirrosis descompensada+hepatocarcinoma+trasplante hepático

La progresión de la enfermedad y la morbilidad observada fue superior en los pacientes HBeAg-negativo, con una mayor proporción de pacientes que requieren trasplante hepático (9% vs 5%) en relación a los pacientes HBeAg-positivo. La mortalidad a los 20 años fue superior en los sujetos HBeAg negativo (59% vs 45%). El coste total estimado para la cohorte de pacientes durante 20 años fue de 3.705 millones de euros.

Conclusiones: En los próximos años se incrementarán la mortalidad, morbilidad y costes asociados a la infección por el VHB, especialmente en los pacientes HBeAg-negativo. El tratamiento antiviral puede modificar esta situación y disminuir la futura morbilidad y mortalidad asociada a la HCB.

EFICACIA Y SEGURIDAD DE ESCITALOPRAM EN LA PREVENCIÓN DE LA DEPRESIÓN INDUCIDA POR INTERFERÓN PEGILADO (PEGIFN) ALFA-2A Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC). ESTUDIO PROSPECTIVO, ALEATORIO Y DOBLE CIEGO CONTROLADO CON PLACEBO

H. Masnou¹, C. Diez-Quevedo¹, R. Planas¹, P. Castellví², R.M. Morillas¹, M.D. Giménez², R. Solà², P. Giner¹, R. Martín-Santos² y M. Diago³ por el Grupo Español para la Prevención de la Depresión en la Hepatitis Crónica C.

¹Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, España; ²Hospital del Mar, Barcelona, España; ³Hospital General, Valencia, España.

El interferón se ha asociado a una alta prevalencia de episodios de depresión mayor, lo que constituye uno de los principales motivos de abandono y fracaso del tratamiento antiviral de la HCC.

Objetivo: Evaluar la eficacia y seguridad de escitalopram para la prevención de la depresión inducida por el PegIFN alfa-2a en la HCC.

Método: Estudio multicéntrico, prospectivo, aleatorio y doble ciego de pacientes con HCC tratados con PegIFN alfa 2a y ribavirina (RBV). Se excluyeron los pacientes con enfermedad psiquiátrica basal. Los pacientes fueron distribuidos al azar para recibir escitalopram (15 mg/día; n = 67) o placebo (n = 66). El tratamiento se inició 2 semanas antes que el tratamiento antiviral y se continuó durante 12 semanas. Las principales variables estudiadas fueron la presencia de un episodio de depresión mayor, según los criterios diagnósticos DSM-IV y las escalas Montgomery-Asberg Depression Scale (MADS) y Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

Resultados: Se incluyó a un total de 133 pacientes (edad media de 45,6 años y el 74% genotipo 1). Diecisiete pacientes (13%) tenían historia de depresión mayor y 22 (17%) de abuso de sustancias. No se encontraron diferencias basales entre ambos grupos. Durante las primeras 12 semanas de tratamiento, solo 1 paciente (2%) del grupo placebo y 5 (8%) del grupo de escitalopram desarrollaron un episodio de depresión mayor. (n.s.). La puntuación de la escala MADRS entre el momento basal y la semana 12, aumentó 2,2 y 3,1 puntos en los grupos placebo y escitalopram, respectivamente (n.s.). Los aumentos correspondientes en la subescala de depresión del HADS fueron de 0,7 y 1 puntos (n.s.). La respuesta bioquímica a la semana 12 (ALT normal) se alcanzó en el 67 y 77% de los pacientes de los grupos placebo y escitalopram, mientras que el ARN-VHC a la semana 12 fue negativo en el 77 y 81% de los casos, respectivamente.

Conclusiones: En los pacientes sin alteraciones psiquiátricas basales (y sin coinfección por VHB y/o VIH) el tratamiento de la HCC con PegIFN alfa 2a y RBV se asocia con una incidencia muy baja de episodios de depresión mayor (4,5%). Por ello, el tratamiento profiláctico con antidepressivo no es una estrategia efectiva para reducir la incidencia de depresión mayor inducida por el tratamiento antiviral. Es necesario definir subpoblaciones de pacientes de alto riesgo para desarrollar depresión mayor. El uso de escitalopram en pacientes con HCC es seguro y no reduce las tasas de respuesta bioquímica y viral a la semana 12.

LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS DE PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC TRANSFECTADAS CON UN ADENOVIRUS CODIFICANTE PARA NS3 Y ACTIVADAS CON EL LIGANDO DE TLR3 POLY(I:C) SON FUNCIONALES Y POTENCIALMENTE ÚTILES EN VACUNACIÓN TERAPÉUTICA

I. Echeverría^a, A. Zabaleta^a, L. Silva^a, N. Díaz-Valdés^a, J.I. Riezu-Boj^a, J.J. Lasarte^a, F. Borrás-Cuesta^a, M.P. Civeira^{a,b}, J. Prieto^{a,b} y P. Sarobe^a

^aÁrea de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada y ^bClínica Universitaria de Navarra, Universidad de Navarra, Pamplona. CIBERehd Clínica Universitaria de Navarra.

La utilización de células dendríticas (CD) cargadas con antígenos de interés presenta un gran potencial para el tratamiento del cáncer y de infecciones crónicas. Trabajos previos han mostrado que en ciertas condiciones las CD de pacientes con infección crónica por VHC podrían ser disfuncionales. Nuestro grupo ha demostrado que la inmunización de ratones con células dendríticas transfectadas con un adenovirus recombinante que expresa la proteína NS3 (AdNS3) del VHC es capaz de inducir potentes respuestas antivirales. Por todo ello, es importante caracterizar las CD de los pacientes como paso previo al desarrollo de un ensayo clínico basado en la administración de estas células. Así, el objetivo del presente trabajo es la caracterización funcional de CD obtenidas de pacientes con infección crónica por VHC, transfectadas con AdNS3 y tratadas con el estímulo de maduración poly(I:C). Se prepararon CD a partir de monocitos de sangre periférica de individuos seronegativos y de pacientes con infección crónica por VHC. Tras 7 días de cultivo se transfectaron con AdNS3 y se trataron con poly(I:C). Dos días después se analizó su fenotipo y sus características funcionales. A pesar de provenir de individuos con infección crónica, no se detectó la

presencia viral en las CD tras el cultivo. Desde el punto de vista fenotípico, las CD de pacientes presentaban niveles menores de las moléculas de presentación antigénica HLA-DR y de co-estímulo y activación CD86 y CD40. Sin embargo, en ensayos funcionales, no se encontraron diferencias en la capacidad de activar a linfocitos T alogénicos o en la capacidad de producir IL-12 o IL-10 tras la estimulación con poly(I:C). Estos resultados sugieren que las CD derivadas de monocitos de pacientes con infección crónica por VHC son funcionales tras la expresión del antígeno NS3 y la activación con poly(I:C), lo que permitiría su uso en ensayos de vacunación terapéutica frente al VHC.

ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIVIRAL E INMUNOESTIMULADORA DE LA EXPRESIÓN SOSTENIDA Y HEPATOESPECÍFICA DE INTERLEUKINA-12 EN MARMOTAS CRÓNICAMENTE INFECTADAS POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS DE MARMOTA

J. Crettaz^a, I. Otano^a, L. Ochoa^a, A. Benito^b, A. Paneda^a, P. Berraondo^a, J.R. Rodríguez-Madoz^a, A. Astudillo^c, S. Kochanek^d, J. Ruiz^e, S. Menne^f, J. Prieto^{a,g} y G. González-Aseguinolaza^a

^aDivision of Hepatology and Gene Therapy, Center for Investigation in Applied Medicine (CIMA), University of Navarra, 31008 Pamplona, Spain. ^bDepartment of Radiology, University Clinic/Hospital, University of Navarra, 31008 Pamplona, Spain. ^cDepartment of Pathology, Hospital Universitario Central de Asturias, 33006 Oviedo, Spain. ^dDivision of Gene Therapy, University of Ulm, 89081 Ulm, Germany. ^eDIGNA Biotech, 28003 Madrid, Spain. ^fGastrointestinal Unit, Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York 14853, USA. ^gLiver Unit, University Clinic, University of Navarra, 31008 Pamplona, Spain.

Actualmente 350 millones de personas en el mundo están crónicamente infectadas por el virus de la hepatitis B (VHB) y alrededor de 87 millones de ellos desarrollarán carcinoma hepatocelular o cirrosis. Las terapias actuales para esta enfermedad solo son eficaces en un porcentaje de pacientes y no están exentas de importantes efectos secundarios. Razones por las cuales nos planteamos la necesidad de tratamientos alternativos de mayor eficacia. La IL-12 es una citoquina con probada actividad antiviral, pero con el problema que su administración sistemática puede ser tóxica para el individuo. En este trabajo hemos desarrollado un sistema basado en la administración génica de esta citoquina que nos permita expresarla a altos niveles en el hígado y reducir la concentración en sangre. Para ello hemos desarrollado un adenovirus de alta capacidad (High capacity, HC), caracterizado por su baja toxicidad y larga expresión, que codifica la interleuquina 12 murina (mIL12) cuya expresión es controlada por un promotor específico de hígado y regulable mediante la administración de mifepristona (HC-RU-mIL12). Hemos comprobado su capacidad antiviral utilizando como modelo animal marmotas infectadas crónicamente por el virus de la hepatitis de la marmota (WHV).

Ocho marmotas con viremias entre 10^6 a 10^{11} genomas virales(gv)/ml fueron tratadas con una dosis de 2×10^{10} i.u. de HC-RU-mIL12, dos semanas más tarde la expresión de IL-12 fue inducida mediante la administración intraperitoneal de mifepristona a una dosis 500 µg de mifepristona por kg de peso durante 42 días. Aunque en todas las marmotas pudimos detectar IL-12 en sangre tras la inducción los niveles individuales eran muy variables, a pesar de ello todas las marmotas con viremias basales inferiores a 1×10^{10} gv/ml (4 marmotas) experimentaron un dramático descenso de la viremia que permaneció estable durante más de un año. En dos de las marmotas de alta viremia se observó un descenso significativo de la viremia pero solo en una caso fue sostenido. En todas las marmotas que respondieron al tratamiento se indujo una significativa activación de la respuesta inmune celular frente al antígeno del core (WHcAg), reducción de grado de inflamación en el hígado y un claro descenso del número de células T reguladoras en el hígado. No se detectó toxicidad alguna debida a la administración del virus o a la IL12.

Estos ensayos demuestran la eficacia de nuestro tratamiento mediante adenovirus de alta capacidad con mIL12. Validamos el HC-RU-mIL12 como vector seguro e inocuo, al producir baja toxicidad y restringir su expresión en hígado de manera regulable exógenamente. Además demuestra la validez de la eficacia antiviral de la IL12 en un modelo clínicamente relevante. Produciendo la citoquina a nivel local, nos permite evitar sus graves efectos secundarios.

LA CINÉTICA VIRAL DURANTE EL TRATAMIENTO CON LAMIVUDINA O ADEFOVIR PREDICE LA RESPUESTA VIROLÓGICA Y EL DESARROLLO DE RESISTENCIAS EN HEPATITIS CRÓNICA HBEAG NEGATIVO

D. Núñez^a, E. Suárez^a, B. Figueruela^a, B. Puche^b, L. Grande^a, J.C. Palomares^b, D. García^a, A. Pérez^a, M.C. Nogales^{b†}, M. Rueda^c y M. Romero Gómez^a

^aUGC Enfermedades Digestivas. ^bUGC Microbiología. Hospital Universitario de Valme, Sevilla. ^cGilead Sciences, Inc, Madrid.

Objetivo: Analizar los factores predictivos de respuesta y breakthrough virológicos en pacientes con hepatitis crónica VHB HBeAg negativo tratados con lamivudina (LAM) o adefovir dipivoxil (ADV).

Pacientes y métodos: Grupo LAM: 19 pacientes, 15 hombres y 4 mujeres, edad media $45 \pm 9,3$ años, tratados $36,2 \pm 19,4$ meses (rango 12-69). Grupo ADV: 26 pacientes, 20 hombres y 6 mujeres, 11 tratados previamente con LAM, edad media 47 ± 9 años, tratados $26,9 \pm 11,4$ meses (rango 12-51). Determinamos ALT y ADN VHB (COBAS Amplicor HBV Monitor Test; límite de detección 200 copias/mL y COBAS Ampliprep Taqman HBV; límite de detección 10 UI/mL; Roche Diagnostics) basal y cada 3 meses durante el tratamiento. Definimos: *No respuesta primaria* (NRP): descenso de ADN VHB $< 1 \log_{10}$ UI/mL a las 24 semanas de tratamiento; *Respuesta virológica* (RV): ADN VHB < 40 UI/mL; *Breakthrough virológico* (BV): aumento de ADN VHB $\geq 1 \log_{10}$ UI/mL en 2 determinaciones. En pacientes con NRP y BV investigamos la presencia de mutaciones en el gen de la polimerasa (TRUGENE HBV Genotyping Kit; Bayer Health Care).

Resultados: No existieron diferencias entre LAM y ADV en el genotipo (D: 63% y 73%), ALT basal ($183,3 \pm 147,8$ UI/L y $107,2 \pm 116$ UI/L) ni ADN VHB basal ($1,4 \times 10^6 \pm 1,8 \times 10^6$ UI/mL y $1,2 \times 10^7 \pm 4,1 \times 10^7$ UI/mL). La NRP fue 10,5% y 11,5%, sin mutaciones en ninguno de los 5 pacientes. La RV fue similar a los 6 meses de tratamiento (47,3% y 53,8%), pero fue superior en ADV a los 12 y 24 meses: 61,5% y 54,5% vs 26,3% y 21,1% ($p = 0,01$ y $p = 0,05$). La probabilidad de desarrollar BV fue superior en LAM a los 6, 12, 18 y 24 meses: 11,8%, 41,2%, 52,9% y 64,7% vs 0%, 13%, 18,5% y 34,8% (log rank: 6,91; $p = 0,009$). Se confirmaron mutaciones a LAM en 11/15 pacientes y a ADV en 4/8 pacientes. No se encontraron factores predictivos basales de RV ni de BV. La probabilidad de BV en ADV fue mayor en los tratados previamente con LAM que en los naïve a los 12 y 24 meses (30% y 42% vs 0% y 30%; $p = ns$). En LAM, RV a los 6 meses predice RV y BV a los 12 y 24 meses. En ADV, RV a los 12 meses predice RV y BV a los 24 meses.

TTO LAM	RV 12 m	RV 24 m	BV 12 m	BV 24 m
ADNVHB 6 m < 40 UI/mL	44 %	44 %	11 %	33 %
ADNVHB 6 m ≥ 40 UI/mL	10 %	0 %	75 %	100 %
	n s	n s	p = ,01	p = ,007
TTO ADV	RV 24 m	BV 24 m		
ADNVHB 12 m < 40 UI/mL	92 %	6 %		
ADNVHB 12 m ≥ 40 UI/mL	10 %	86 %		
	p = ,000	p = ,000		

Conclusiones: En pacientes con hepatitis crónica HBeAg negativo el tratamiento con lamivudina presenta un riesgo elevado de breakthrough virológico. Existe un mayor riesgo de breakthrough virológico tras tratamiento con adefovir, en los pacientes tratados previamente con lamivudina, que en los pacientes naïve. Un nivel de ADN VHB inferior a 40 UI/mL durante el tratamiento predice la respuesta y el breakthrough virológicos con ambos fármacos.

CUANTIFICACIÓN DEL HBSAG COMO PREDICTOR DE REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS DELTA (VHD) EN PACIENTES CO-INFECTADOS POR VIH

M. Bottecchia^{1,3}, J. Martínez-Alarcón¹, J. Sheldon^{1,3}, A. Madejón^{2,3}, C. Toro¹, P. Ríos^{1,3}, J. García-Samaniego^{2,3} y V. Soriano¹

¹Departamento de Enfermedades Infecciosas y ²Unidad de Hepatología, Hospital Carlos III, Madrid. ³CIBEREHD, Madrid, España.

Introducción: El virus de la hepatitis Delta (VHD) es un virus satélite que depende del virus de la hepatitis B (VHB) para replicarse e infectar. El VHD precisa del HBsAg para llevar a cabo la encapsidación de su propio genoma, por lo que la cuantificación del HBsAg podría ser una herramienta útil para la evaluación de los pacientes con hepatitis crónica delta (HCD). Estudios recientes han sugerido que la terapia antiretroviral puede reducir la viremia del VHD en pacientes VIH+. Como los antiretrovirales con actividad frente al VHB no tienen efecto directo sobre la replicación del VHD, podrían ejercer una acción antiviral indirecta a través de la disminución de la expresión del HBsAg.

Pacientes y métodos: Se realizó un estudio longitudinal en el que se incluyeron todos los pacientes co-infectados con VIH y VHD que recibían TARGA con lamivudina, tenofovir y/o emtricitabina en nuestro hospital. La serología del VHB y del VIH se determinó con la prueba AxSym (Abbott) y la serología del VHD se realizó con la prueba Radim EIA (Radim Diagnostics). La cuantificación del ARN-VHD se llevó a cabo por PCR en tiempo real (TaqMan), de acuerdo con el procedimiento descrito por le Gal et al. (J Clin Microbiol 2005). La cuantificación del ADN-VHB se determinó por Cobas TaqMan (Roche). El HBsAg se cuantificó por EIA (Bio-Rad) utilizando como patrón un estándar internacional de cuantificación HBsAg (NIBSC, Potters bar, UK).

Resultados: Se incluyeron un total de 16 pacientes VIH+ con HCD. Se observó una correlación significativa entre los niveles de ARN-VHD y los niveles de HBsAg ($r = 0,557$, $p < 0,0001$). Por el contrario, no se observó ninguna correlación entre los niveles de ADN-VHB y los títulos de HBsAg ($r = -0,083$, $p < 0,392$). En 10 (62,5%) pacientes se observó un descenso simultáneo de los niveles de ARN-VHD y HBsAg una vez iniciado el tratamiento. Los valores de ARN-VHD y HBsAg al inicio del tratamiento eran 7,7 log copias/ml y 15.750 IU/ml, respectivamente, y después de una media de 6,1 años de TARGA con fármacos anti-VHB descendieron a 5,6 log copias/ml y 2.878 IU/ml, respectivamente. En los 6 pacientes restantes no se observaron cambios significativos en los niveles de viremia delta ni en los títulos de HBsAg.

Conclusiones: Existe buena correlación entre los niveles de ARN-VHD y los títulos de HBsAg en la mayoría de los pacientes VIH+ con HCD tratados durante varios años con regímenes de TARGA activos frente al VHB. Estos datos sugieren la existencia de un efecto antiviral indirecto de los análogos de nucleos(t)idos frente al VHD. La cuantificación del HBsAg puede ser una herramienta útil para monitorizar la replicación del VHD en pacientes que reciben tratamiento con análogos de nucleos(t)idos con actividad frente al VHB.

HEPATITIS CRÓNICA C GENOTIPO 4: EFICACIA Y SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO COMBINADO DE PEGINTERFERÓN ALFA 2A Y RIBAVIRINA

M. Diago¹, J. Boadas², R. Planas³, R. Solá⁴, J. A. del Olmo⁵, J. Crespo⁶, J.C. Erdozain⁷ y M.D. Antón⁸ en nombre de los investigadores del estudio G-4

¹Hospital General de Valencia, ²Hospital de Terrassa (Barcelona),

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

Antecedentes: Los pacientes con genotipo 4 han estado poco representados en los estudios promovidos para registro de los fármacos que utilizamos actualmente para tratar la hepatitis C a pesar de ser el 20% de los infectados en el mundo. Los datos que disponemos

proceden de los escasos pacientes incluidos en los estudios de registro o de pequeños estudios, mostrando una respuesta virológica sostenida (RVS) inferior a los pacientes genotipo 2 y 3. Algunos estudios sugieren que los pacientes genotipo 4 alcanzan tasas de respuesta superiores a los que tienen genotipo 1.

Objetivo: Conocer cual es la tasa de RVS en una población de pacientes españoles con hepatitis C crónica infectados por el virus de la hepatitis C (VHC) genotipo 4.

Pacientes y métodos: Se reclutaron un total de 198 pacientes con hepatitis C crónica, genotipo 4 con: una media de edad de 39,3 años, un 79,8 % de los cuales eran hombres con una media de peso de 73,9 kg, y un índice de masa corporal (IMC) de 25,3, niveles de ALT basal de 95 UI/ml. Se realizó biopsia en el 86,9 % de los pacientes. Todos fueron tratados durante 48 semanas con PEG-IFN α -2a 180 μ g/semanas en combinación con RBV (1000 o 1200 mg/día según peso $> 0 \leq 75$ kg). Se realizó un "análisis por intención de tratar" de la respuesta en semana 24 después de finalizar el tratamiento. Se analizaron los niveles de ARN-VHC, parámetros bioquímicos y examen clínico basal y en las semanas 12, 24 y 48 durante el tratamiento y 24 semanas después de finalizar el mismo.

Resultados: 198 pacientes fueron incluidos en este estudio. 63 (33,5%) de ellos abandonaron el mismo, 35 por no respuesta en semana 12 y el resto debido a efectos adversos del tratamiento o por decisión personal. 144 pacientes tuvieron respuesta virológica precoz en semana 12 (76,6%). Al finalizar el tratamiento 110 (58,5%) presentaron respuesta virológica. En semana 72 (24 semanas después de finalizar el tratamiento) 105 pacientes tuvieron respuesta virológica (55,9%). La seguridad del tratamiento fue similar a lo publicado en artículos previos y los acontecimientos adversos que se produjeron se resolvieron de la forma habitual mediante reducciones de dosis de ambos productos (PEG-IFN α -2a y RBV).

Conclusiones: Los pacientes españoles con hepatitis C crónica genotipo 4, tratados con PEG-IFN α -2a en combinación con ribavirina (a dosis estándar) consiguieron tasas de respuesta virológica sostenida (RVS) del 55,9%. La respuesta virológica a la semana 12 tiene un valor predictivo positivo de 72%. La tasa de suspensión por efectos adversos fue inferior a la recogida en los estudios de registro.

INCIDENCIA Y ANÁLISIS DE LOS FACTORES ASOCIADOS CON LA RESISTENCIA A ADEFOVIR EN PACIENTES RESISTENTES A LAMIVUDINA

L.G. Diéguez¹, S. Melón², I. Pérez¹, V. Cadahía¹, R. Pérez¹, M. Oña², L. Rodrigo¹ y M. Rodríguez¹

¹S. Digestivo y ²Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias.

Introducción: El adefovir es el fármaco de elección en el tratamiento de rescate en pacientes que han desarrollado resistencia a lamivudina, aunque el riesgo de desarrollar resistencia al mismo es superior al observado en pacientes *naïve*.

Objetivo: Conocer la incidencia y los factores que se asocian con el desarrollo de resistencia a adefovir en pacientes resistentes a lamivudina.

Pacientes y métodos: Se analizó la incidencia de resistencia a adefovir en 39 pacientes, 34 varones y 5 mujeres, con resistencia a lamivudina y con una edad media de 54 ± 13 años. De ellos 21 eran HBeAg positivo, 18 estaban infectados por genotipo D y 17 por genotipo A. Además de la mutación M204V/I, en 20 estaba presente la mutación L180M y la carga basal media fue de 164×10^6 cop/ml. Se trataron con adefovir en monoterapia 22 y con lamivudina y adefovir 17. Fueron seguidos prospectivamente realizando determinaciones trimestrales de ADN-VHB por una técnica de PCR. En caso de incremento en el ADN-VHB $> 1 \log_{10}$ con respecto al nadir se realizó análisis genotípico, por un método de LIPA (TRUGENE HBV). Para el análisis estadístico se utilizaron la χ^2 , las curvas ROC el método Kaplan-Meier y la prueba de log-rank.

Resultados: A los 12 meses de tratamiento, el 25% había alcanzado valores de ADN-VHB $< 10^3$ copias/ml, sin diferencias

entre tratados con monoterapia y con combinación. De los 39 pacientes, 7(18%) desarrollaron resistencia a adefovir durante un seguimiento medio de $31,3 \pm 12$ meses, con una probabilidad acumulada a los 3 y 5 años del 17% y 38% respectivamente. De ellos, 4 presentaban la mutación A181V y 3 la N236T. El riesgo de desarrollo de resistencia no se asoció con la edad, con la presencia o ausencia de HBeAg, con el genotipo A o D, con la existencia o no de mutación L180M, ni con los niveles de ADN basales ni a los meses 1, 3, 6 y 12 de tratamiento. De los 22 pacientes tratados con monoterapia, 7 desarrollaron resistencia, con una probabilidad acumulada de 25% y 51% a los 3 y 5 años, mientras que la misma no se desarrolló en ninguno de los 17 tratados con lamivudina y adefovir ($p = 0,04$; log rank).

Conclusiones: El riesgo de desarrollar resistencia a adefovir es elevado en pacientes resistentes a lamivudina. A pesar de que no se observaron diferencias en la intensidad de la inhibición de la replicación viral, el tratamiento combinado con lamivudina evita la aparición de resistencia a adefovir.

LA INSULINO RESISTENCIA Y ESTEATOSIS SE ASOCIAN A NIVELES BAJOS DE ADIPONECTINA EN PACIENTE NO DIABÉTICOS CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C POR GENOTIPO 1B

M. Lozano, O. Lo Iacono, O. Núñez, A. Matilla, D. Rincón, M. Salcedo, J. Gómez, G. Clemente y R. Bañares
CIBEREHD ISCIII. Unidad de hepatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Antecedentes y objetivos: La adiponectina mejora la sensibilidad periférica a la insulina, reduce la acumulación de lípidos en los macrófagos y tiene propiedades anti-inflamatorias. En los pacientes con esteatosis hepática niveles disminuidos de adiponectina se asocian con aumento del depósito de grasa y con más actividad neuroinflamatoria. El objetivo de nuestro estudio es tratar de definir el papel de la adiponectina en el desarrollo y progresión del daño hepático en pacientes no diabéticos con hepatitis crónica por VHC genotipo no-3.

Métodos: Estudio prospectivo en el que se incluyeron consecutivamente 60 pacientes [hombres 60%, edad media 45 (10) años] con hepatitis crónica por VHC (todos con genotipo no-3, 74% genotipo 1b), que ingresaron para la realización de biopsia hepática percutánea. Ninguno de ellos tenía antecedentes de diabetes ni había sido previamente tratado con fármacos antivirales. Se relacionaron los niveles en suero de adiponectina con las variables metabólicas y las variables histológicas (esteatosis, inflamación, fibrosis).

Resultados: Los niveles de adiponectina se relacionaron inversamente con el sexo masculino ($p = 0,02$), la insulino-resistencia ($\text{HOMA} > 2,7$) ($p = 0,02$) y la insulinemia en ayunas ($r = -0,39$, $p = 0,02$). En los pacientes con esteatosis ($n = 28$, 47%) se observaron niveles más bajos de adiponectina [$8(8)$ mcg/ml Vs $21(26)$ mcg/ml $p = 0,04$]. Sin embargo no existía asociación con el grado de inflamación ni con el estadio de fibrosis hepática. Se observó también una asociación inversa de los niveles de adiponectina con los de sVCAM-1 ($r = -0,31$; $p = 0,05$) y MMP-9 ($r = -0,36$; $p = 0,02$). Sin embargo no se evidenció asociación con los niveles de TNF- α ($r = -0,117$ $p = 0,5$). Por último, los niveles de adiponectina tampoco se asociaron con la edad, el IMC [≥ 30 Kg/m² en 12 pacientes (20%)], la obesidad abdominal [circunferencia abdominal: hombres > 102 ($n = 10$), mujeres > 88 ($n = 15$)], porcentaje de grasa libre (%), Holtain body composition analyser), síndrome metabólico (según los criterios del ATP III) ni con la carga viral del VHC.

Conclusiones: En pacientes no diabéticos, con hepatitis crónica por VHC, genotipo no-3, los niveles de adiponectina se relacionan inversamente con la resistencia periférica a la insulina y la presencia de esteatosis hepática. Estos resultados sugieren el posible papel de la adiponectina como mediador de los cambios sobre la sensibilidad periférica a la insulina producidos por el VHC.

ESTUDIO OBSERVACIONAL, PROSPECTIVO DE SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN ALFA 2A PEGILADO ASOCIADO A RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA CON NIVELES NORMALES DE TRANSAMINASAS. ANÁLISIS INTERMEDIO A LAS 12 SEMANAS

J.L. Calleja^a, B. Ruiz-Antorá, J. García-Samaniego^b, M. Traperó^c, J.C. Erdozaín^d, R. Solá^e, R. Morillas^f, A. Castro^g, F. Jorquera^h, M. Vergaraⁱ, J. Salmerón^j, L. Grande^k, J. Aguilar^l, J. Pons^m, O. Núñezⁿ, A. Domínguez^o, J. Rodríguez^p, Senador^q, B. Peñas^r y V. Torrente^s por el Grupo Español para el manejo de la infección por VHC Y transaminasas normales

^aH. Puerta de Hierro, ^bH. Carlos III, ^cH. La Princesa, ^dH. La Paz, ^eH. del Mar, ^fH. Germans Trias i Pujol, ^gH. Juan Canalejo, ^hH. de León, ⁱH. Parc Taulí, ^jH. San Cecilio, ^kH. de Valme, ^lH. Virgen del Rocío, ^mH. Virgen Arrixaca, ⁿH. G. Marañón, ^oH. J. Ramón Jiménez, ^pH. Reina Sofía (Murcia), ^qH. Rosell, ^rH. S. Joan de Reus.

El estudio que permitió avalar el tratamiento de los pacientes infectados por el virus de la hepatitis C con transaminasas normales utilizó dosis de 800 mg/día. Sin embargo la dosis actual recomendada es de 1000-1200 para genotipos 1 y 4. 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 asociado a ribavirina a dosis estándar (1000-1200 mg/día) en el aclaramiento del virus C genotipo 1 y 4. En este análisis intermedio se ha evaluado la respuesta virológica precoz (RVP: ARN-VHC negativo o disminución ≥ 2 log en la semana 12 de tratamiento) y la respuesta virológica rápida (RVR: ARN-VHC < 50 IU/ml en la semana 4).

Métodos: Estudio 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 65 años, con evidencia de infección por VHC 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 91 pacientes. El 92% genotipo 1 y el 8% genotipo 4. La media de las cifras basales de ALT fue de 29 UI/ml (± 9 UI/ml). Un 66% de los pacientes incluidos presentaba cargas virales basales ≥ 600.000 IU/ml, con una carga viral media de 3.928.390 IU/ml ($\pm 9.378.797$ IU/ml). La tasa de RVR global fue del 30,1%. La tasa de RVR fue significativamente mayor en pacientes con carga viral baja (43,5% vs 24,0%) ($p < 0,05$). La tasa de pacientes con RVP ha sido de 91,2%. El subgrupo de pacientes con carga viral inicial alta (≥ 600.000 IU/ml), presento una RVP de 90% vs al 93,5%, del grupo de pacientes con carga viral baja, sin diferencias estadísticamente significativas. Durante las doce semanas de tratamiento un 63,7% de los pacientes ha presentado un descenso de ALT, la disminución media en pacientes respondedores ha sido de 4,5 UI/ml.

Conclusiones: En pacientes con ALT normales y tratamiento con Peginterferón asociado a ribavirina a dosis estándar se consiguen tasas de RVR y RVP superiores a las obtenidas en pacientes con transaminasas altas.

¿ES EL GENOTIPO DEL VHB IMPORTANTE EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON LAMIVUDINA?

V. Trejo, M. Buti, E. Hermosilla, R. Jardí, A. Rejas, F. Rodríguez-Frías y R. Esteban

Servicio de Hepatología, de Bioquímica y de Medicina Preventiva i Epidemiología Hospital General Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Lamivudina fue el primer fármaco oral aprobado para el tratamiento de la hepatitis crónica B. En nuestro país existen escasos estudios publicados y todos ellos con un número reducido de pacientes.

Objetivo: Evaluar la eficacia y seguridad de lamivudina en una serie amplia de pacientes con hepatitis crónica B y valorar la eficacia en relación al genotipo del VHB.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de un único centro con 110 pacientes con hepatitis crónica B tratados con monoterapia con lamivudina (100 mg al día) durante un tiempo medio de 36 meses (rango 6-109 meses). Los criterios de inclusión fueron hepatitis crónica B, tratamiento inicial con lamivudina, y estar infectado por genotipo A, 6 D. Fueron excluidos los pacientes coinfectados por VHC, VHD y VIH y aquellos tratados previamente con otro análogo de nucleos(t)idos. Todos los pacientes fueron controlados cada 3-6 meses y se determinó los valores de ALT y el DNA-VHB por PCR a tiempo real (LID 50 copias/mL). El genotipo del VHB se analizó por Inno-LiPA (INNO-LiPA HBV Genotyping Assay; Innogenetics NV., Ghent, Belgium).

Resultados: De los 110 pacientes incluidos 33 (30%) eran HBeAg positivo y 76 HBeAg negativo, edad media 52 ± 13 años, 80% varones, mediana de niveles séricos de DNA-VHB de 7 log copias/mL (rango 5-9) y mediana valores ALT de 102 IU/L (rango 50-490). El 40% estaban infectados por Genotipo A y el 60% por genotipo D. Entre los pacientes HBeAg positivo se observó pérdida del HBeAg en 17 (51%) de los casos y seroconversión a antiHBe en 15 (45%) tras un tiempo medio de 50 meses. El DNA-VHB fue negativo en 75% de los casos a los 12 meses, 58% a los 36 meses y 54% a los 60 meses. Se detectaron mutaciones asociadas a resistencia a lamivudina en el 21% de los casos a los 12 meses, 43% a los 36 meses y 66% a los 60 meses. De forma global, en relación al genotipo del VHB, el genotipo D se asoció a una menor tasa de resistencias (47% vs 68% $p = 0,049$) y un menor tiempo hasta la negativización del DNA_VHB ($p = 0,020$), por el contrario no se encontraron diferencias en relación a la normalización de las ALT (82% vs 89% $p = 0,424$) ni a seroconversión a antiHBe (47% vs 43%). Solo 3 (2,7%) pacientes eliminaron el HBsAg. La tolerancia fue excelente. Sin observarse efectos adversos relacionados con lamivudina.

Conclusión: Lamivudina es un fármaco eficaz y seguro en pacientes con hepatitis crónica B especialmente en paciente infectados por genotipo D donde se observa un tiempo menor a la respuesta y una tasa mas baja de resistencias.

RESPUESTA ESPECÍFICA DE CÉLULAS T CD4+ Y CD8+ FRENTE AL VHC EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C CON Y SIN INFECCIÓN POR VIH

N.I. Rallón, M. López, J. García-Samaniego, V. Soriano, M. Romero, A. Moreno, P. Labargo, P. García-Gasco y J.M. Benito

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

La respuesta específica de células T frente al VHC es débil en la mayoría de los pacientes con hepatitis crónica C (HCC). Esta respuesta puede ser menor en pacientes coinfectados por VIH. Este estudio examina el perfil funcional de las células T específicas frente al VHC en pacientes con HCC con y sin infección por VIH.

Métodos: Se examinó la respuesta específica de células T CD4+ y CD8+ en 30 pacientes con HCC sin tratamiento previo. Diez pacientes eran monoinfectados por VHC y 20 tenían coinfección VIH/VHC. El perfil de producción de citoquinas (IFN- γ , IL-2 y TNF- α) en respuesta a 324 péptidos *solapantes* de cinco proteínas del VHC (E2, p7, NS3, NS5a, NS5b) específicos para cada genotipo se analizó mediante citometría de flujo.

Resultados: Las medias del valor absoluto de linfocitos T CD4+ y la carga viral VIH en plasma de los pacientes VIH+ fueron de 390 ± 213 células/ μ l y $2,6 \pm 1,3$ log copias/ml, respectivamente (65% de los pacientes VIH+ recibían TARGA). Las cifras medias de ARN-VHC fueron de $5,7 \pm 0,8$ log UI/ml en los pacientes VHC+/VIH- y de $6,4 \pm 0,7$ log UI/ml en los pacientes con coinfección VIH/VHC ($p = 0,03$). El genotipo 1 fue mayoritario en los pacientes monoinfectados (90% vs 45%). La proporción de pacientes con respuesta detectable CD4+ ó CD8+ frente a las cinco proteínas del VHC fue elevada (> 80%) y similar en pacientes con y sin coinfección por VIH. Los niveles de respuesta total CD4+ y CD8+ fueron también similares en ambos grupos. El perfil de citoquinas producidas por las células T CD4+ y CD8+ específicas estuvo do-

minado por las células productoras de TNF- α en ambos grupos. Sin embargo, la contribución de las células que producen TNF- α a la respuesta CD4+ frente a las proteínas NS3 y NS5a fue significativamente mayor en los pacientes coinfectados que en los monoinfectados por VHC, mientras que la contribución de las células que producen IL2 a la respuesta CD4+ fue más alta en los pacientes VHC+/VIH- que en los coinfectados ($p = NS$). En pacientes con genotipo 1 se observó una asociación entre la contribución de las células que producen únicamente TNF- α + a la respuesta CD4+ frente a la proteína NS5a y la carga viral en suero del VHC ($r = 0,86$, $p = 0,01$).

Conclusiones: El perfil funcional de las células T específicas frente al VHC se limita a una sola función dominada por la producción de TNF- α . La capacidad de las células T CD4+ para producir IL2 frente al VHC está disminuida en los pacientes coinfectados por VIH. El nivel más elevado de contribución de las células que producen únicamente TNF- α + a la respuesta CD4+ en pacientes coinfectados podría explicar en parte el menor control de la replicación del VHC en esta población.

UTILIDAD DE LA CINÉTICA BIOQUÍMICA COMO FACTOR PREDICTIVO DE RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL CON INTERFERON PEGILADO MÁS RIBAVIRINA EN PACIENTES NAÍVE CON HEPATITIS CRÓNICA C

L. González Moreno^a, J. Mendoza Ridruejo^a, J.A. Moreno Monteagudo^a, J.P. Gisbert^a, L. García Buey^a, M.J. Borque^b, M. Trapero Marugán^a y R. Moreno Otero^a

^aServicio de Aparato Digestivo Hospital Universitario de La Princesa. ^bUnidad de Biología Molecular Hospital Universitario de La Princesa.

Introducción: El tratamiento para la hepatitis crónica C (HCC) consiste en la combinación de interferón pegilado (PEG-IFN) y ribavirina. Los factores predictivos de respuesta virológica sostenida (RVS) son el genotipo y la carga viral. Los factores bioquímicos no han sido evaluados de manera exhaustiva en la literatura.

Objetivos: Evaluar la cinética bioquímica durante el tratamiento con PEG-IFN más ribavirina en pacientes naíve con HCC genotipo 1 y analizar su posible utilidad como factores predictivos de RVS.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 141 pacientes naíve con HCC genotipo 1: 46 mujeres (32,6%) y 95 hombres (67,4%). La edad media fue de 47 ± 9 años. Los pacientes recibieron PEG-IFN- α más ribavirina durante un año. Se analizaron variables epidemiológicas, bioquímicas, histológicas y virales basalmente, durante el tratamiento (meses 1, 3, 6 y 12) y tras 6 meses de seguimiento. Para el estudio estadístico se utilizaron los test de chi cuadrado, t-Student, ANOVA y regresión logística.

Resultados: 68/141 pacientes (48%) lograron una RVS, 38/141 (27%) fueron recidivantes y 35/141 (28,4%) no respondieron (NR). Valores normales de GPT y GOT en los meses 1 y 3 de tratamiento se asociaron con RVS (GPT normal primer mes ($p < 0,002$); GOT normal primer mes ($p < 0,006$); GPT normal tercer mes ($p < 0,01$); GOT normal tercer mes ($p < 0,02$)). En el análisis univariante la RVS se asoció con bajos niveles basales de GPT (RVS: $175 \pm 252,04$ vs NR: $120,03 \pm 174,06$; $p < 0,01$), ferritina (RVS: $179,13 \pm 114,81$ vs NR: $318,07 \pm 175,90$; $p < 0,01$) y del cociente GOT basal /GPT basal (RVS: $0,59 \pm 1,16$ vs NR: $0,66 \pm 0,15$; $p < 0,01$). Niveles basales más elevados de colesterol total (RVS: $184,65 \pm 31,42$ vs NR: $167,41 \pm 51,12$; $p < 0,02$) y del cociente GPT basal /GGT basal (RVS: $3,43 \pm 2,96$ vs NR: $2,27 \pm 2,03$; $p < 0,01$) se asociaron a una mayor probabilidad de RVS. Al mes, las variables predictoras de RVS fueron valores más bajos de GPT (RVS: $40,22 \pm 36,43$ vs NR: $57,11 \pm 42,26$; $p < 0,05$), GOT (RVS: $31,82 \pm 14,80$ vs NR: $44,64 \pm 23,92$; $p < 0,007$) y GGT (RVS: $37,34 \pm 22,59$ vs NR: $50,74 \pm 35,78$; $p < 0,01$) y niveles más elevados de colesterol total (RVS: $170,65 \pm 28,13$ vs NR: $148,06 \pm 31,21$; $p < 0,001$). La magnitud del descenso de la GPT se estableció con el cociente GPTb/GPT1mes. En la curva ROC el área bajo la curva fue de 0,75. Se seleccionó 2 como mejor punto de corte (sensibilidad 70%, especificidad 65%, VPP 72% y VPN 64%). En el análisis univariante un

cociente ≥ 2 se asoció con la RVS; $p < 0,001$, OR: 4,7 95% IC: 2,29-9,97.

Conclusiones: 1) El tratamiento con PEG-IFN más ribavirina es eficaz, alcanzando tasas de RVS del 45,8%. 2) La cinética de las cifras de GPT y GOT resulta útil para predecir una RVS de forma precoz, barata y sencilla. 3) La probabilidad de alcanzar una RVS es cuatro veces mayor en los pacientes con descenso $\geq 50\%$ en los valores de GPT al mes con respecto a su valor basal.

RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA (RVS) AL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON GENOTIPO 4 DEL VHC Y COINFECCIÓN POR VIH

L. Martín-Carbonero¹, M. Puoti², J. García-Samaniego¹, M. Romero¹, E. Losada³, A. Mariño⁴, K. Aguirrebengoa⁵, M. Núñez¹, J. Carbó¹ y V. Soriano¹

¹Hospital Carlos III. CIBEREHD. Madrid. ²Spedale Civili. Brescia Italia. ³Hospital Clínico. Santiago de Compostela. ⁴Hospital Arquitecto Marcide. Ferrol. ⁵Hospital de Cruces. Bilbao.

Introducción y objetivo: La respuesta al tratamiento de la hepatitis C con interferón pegilado (pegIFN) y ribavirina (RBV) en los pacientes infectados por el genotipo 4 es similar a la de los pacientes con genotipo 1 e inferior a la observada en los genotipos 2/3. En la mayoría de los estudios el número de pacientes con genotipo 4 es bajo y los datos de respuesta viral sostenida (RVS) en ocasiones contradictorios. Además, los factores relacionados con la respuesta en esta población de pacientes no son bien conocidos.

Métodos: Se incluyó en un análisis retrospectivo a todos los pacientes VHC+/VIH+ con genotipo 4 tratados con pegIFN alfa 2a (180 mcg/semana) + RBV (1000-1.200 mg/día) durante 48 semanas en dos estudios multicéntricos (PRESCO y ROMANCE). La cifra basal de ARN-VHC, su indetectabilidad en la semana 4 (RVR) y el descenso de 2 log en la semana 12 (RVP) se evaluaron como predictores de respuesta y se incluyeron en un análisis uni y multivariado. Los resultados se expresan en valores de mediana (IQR).

Resultados: Se analizó a 75 pacientes (60 varones) con una edad media de 40 años y un recuento de linfocitos CD4 de 598 cel/ul. El 49% de los pacientes tenía una cifra de ARN-VHC < 50 copias/ml, el 71% presentaba elevación persistente de las transaminasas y el 31% tenía fibrosis avanzada (F3-4). La mediana de la cifra basal de ARN-VHC fue 5,7 log/ml. Diez pacientes (13%) alcanzaron RVR y 26 (35%) RVP. En los análisis por intención de tratar y *on-treatment* la RVS se observó en 21/75 (28%) y 21/62 (34%) de los pacientes, respectivamente. En el análisis multivariado la cifra basal de ARN-VHC (OR para cada incremento de 0,08 log₁₀, IC 95%: 0,008-0,8) y la RVP (OR 6,5 IC 95%: 1,3-30,8) se asociaron de modo independiente con la RVS. No se pudo establecer un punto de corte adecuado de la cifra basal de ARN-VHC para predecir respuesta (sensibilidad de 0,3 para 5,7 log₁₀ de ARN-VHC).

Conclusiones: Los pacientes coinfectados por VHC/VIH portadores del genotipo 4 tratados con pegIFN y RBV tienen una tasa baja de RVS, inferior a la de los pacientes VIH-, y constituyen una población "difícil de tratar". Los niveles basales de ARN-VHC viral y la RVP son los mejores predictores de respuesta.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON COINFECCIÓN VIH/VHC Y TRANSAMINASAS NORMALES

L. Martín-Carbonero, M. Romero, V. Soriano, I. Maida, P. Barreiro, M. Núñez, C. Castellares, A. Moreno y J. García-Samaniego

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

Introducción y objetivo: Entre un 25% y un 30% de los pacientes con infección por VHC presenta transaminasas persistentemente normales (ALTPN). La actividad histológica y la progresión de la fibrosis hepática son más leves en los pacientes con ALTPN que en los que tienen transaminasas elevadas. En los pacientes coinfectados por VHC y VIH la prevalencia y la implicación clínica de la hepatitis C con ALTPN no son bien conocidas.

Pacientes y métodos: Se analizó a todos los pacientes VIH+ con ARN-VHC + a los que se realizó evaluación de la fibrosis hepática con elastografía (FibroScan®) en nuestro hospital. ALTPN se definió como la normalidad de los valores de AST/ALT en tres determinaciones consecutivas en un periodo de un año. Los pacientes con ALTPN se compararon con un grupo control de pacientes con elevación crónica de transaminasas.

Resultados: Se identificaron 87 pacientes con ALTPN y 133 pacientes con ALT elevada. La edad media fue similar en ambos grupos (43 y 42 años, respectivamente). El 17% de los pacientes con ALTPN y el 23% de los que tenían transaminasas elevadas habían recibido alguna pauta de tratamiento con IFN sin respuesta. La fibrosis hepática fue inferior en el grupo de pacientes con ALTPN (Tabla).

Estadio fibrosis (Metavir)	Leve (< 9,5 KPa) (F0-F2)	Moderada (9,5-13,9 KPa) (F3)	Grave (≥ 14 KPa) (F4)
ALTPN	76 (86%)	9 (10%)	3 (4%)
ALT elevada	65 (49%)	22 (16%)	46 (35%)

ALTPN se asoció significativamente con el sexo femenino (42% vs 26%; $p = 0,012$) y los genotipos 4 ó 1 (33% vs 6%; $p = 0,001$, y 67% vs 53%; $p = 0,04$; respectivamente). Los pacientes con elevación de ALT recibían más frecuentemente TARGA (90% vs 75%; $p = 0,006$) y eran portadores del genotipo 3 (24% vs 10%; $p = 0,01$). Los pacientes con ALTPN presentaban cifras más altas de plaquetas (media, 214 vs 160 x1000/ul; $p < 0,001$) y de linfocitos CD4 (media, 567 vs 475 cels/ul; $p = 0,09$) que los pacientes con ALT elevada. Además, los niveles de ARN-VHC fueron inferiores en el grupo de ALTPN (5.8 vs 6.16 logs; $p = 0,004$). No se observaron diferencias en los estadios de fibrosis avanzada (F3-F4) entre los pacientes con ALTPN en función del genotipo (G1:13%; G2: 33%; G3: 11% y G4: 14%) o tratamiento previo (20% y 13% $p = 0,21$).

Conclusiones: Casi un 40% de los pacientes coinfectados VIH/VHC tienen ALTPN y un 15% de ellos presenta fibrosis avanzada (F3-F4) independientemente del genotipo. Los pacientes con ALTPN son mayoritariamente mujeres y portadores del genotipo 4.

FACTORES PREDICTIVOS DE LOS DIFERENTES PATRONES DE RESPUESTA VIROLÓGICA E INFLUENCIA SOBRE LA RESPUESTA VIROLÓGICA PERSISTENTE DURANTE EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL EN PACIENTES NAÍVE CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC)

M. García-Retortillo, M.D. Giménez, C. Márquez, I. Cirera, S. Coll, F. Bory y R. Solà

Sección de Hepatología. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Spain.

El genotipo del VHC es el factor predictivo de respuesta virológica persistente (RVP) más importante y determina la duración del tratamiento antiviral pero estudios recientes han demostrado que una rápida negativización del ARN-VHC tras iniciar tratamiento también se asocia a una mayor tasa de RVP.

Objetivos: 1) Describir los patrones de respuesta antiviral y establecer su frecuencia durante el tratamiento antiviral en pacientes naïve con HCC. 2) Analizar los factores predictivos de los patrones de respuesta antiviral y su relación con la RVP.

Pacientes y métodos: Se incluyeron de forma consecutiva 206 pacientes desde mayo de 2002 hasta diciembre de 2006. Todos los pacientes fueron tratados con Interferón Pegilado alfa-2a y ribavirina según pauta estándar dependiendo del genotipo. La determinación del ARN-VHC (PCR cuantitativa y cualitativa) se llevó a cabo en el momento basal y en las semanas 4, 12, 24, 48 y 72 (en los genotipos 1 y 4). Definición de los diferentes patrones de respuesta: 1- RVP (Respuesta Virológica Rápida, ARN indetectable en la semana 4), 2-RVPc (Respuesta Virológica Precoz completa, ARN indetectable en semana 12), 3-RVPp (Respuesta Virológica Parcial, un descenso > 2 log₁₀ con ARN detectable en semana 12), y 4-NR (No Respuesta, disminución de < 2 log₁₀ de la carga viral respecto a

la basal, determinado a la semana 12). La adherencia al tratamiento se definió como cumplimiento de >80% del tiempo y de las dosis de fármacos establecidas.

Resultados: La mediana de edad fue de 41 años (rango: 18-75) y el 67% fueron hombres. La distribución por genotipos fue: G1: 46%, G2: 6.8%, G3: 40.3% y G4: 6.3%. Se observó RVR en 48 pacientes (48.5%), RVPc en 54 pacientes (26.2%), RVPp en 20 pacientes (9.7%) y NR en 32 pacientes (15.5%). La RVP se consiguió en el 66% de los pacientes. La tasa de RVP varió entre los diferentes patrones de respuesta antiviral (90.9%, 66.7%, 50% y 0% para RVR, RVPc, RVPp y NR, respectivamente). La RVP se relacionó con la edad, el genotipo, la RVR, el índice de Forns para evaluación de fibrosis y la adherencia al tratamiento pero sólo la RVR ($p < 0,001$) y la adherencia al tratamiento ($p = 0,002$) mostraron un valor predictivo independiente para la RVP. Las únicas variables asociadas de forma independiente con la RVR fueron el genotipo ($p < 0,001$) y el índice de Forns para la evaluación de la fibrosis ($p = 0,04$). Por otro lado, el genotipo y un estadio avanzado de fibrosis (METAVIR 3-4) se asociaron de forma independiente a la NR. El VPP de RVR para la RVP alcanzó el 90%.

Conclusiones: La RVR se consigue en una proporción importante de pacientes naïve con hepatitis crónica C y constituye el factor predictivo de RVP más potente. El genotipo y el estadio de fibrosis se asocian a la RVR. Las guías para el tratamiento de la HCC deberían tener en cuenta la RVR como un factor clave a la hora de establecer la duración del tratamiento antiviral.

LA RESISTENCIA INSULÍNICA NO PREDICE LA RESPUESTA VÍRICA SOSTENIDA A INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN LOS INDIVIDUOS COINFECTADOS POR VIH Y VHC

N. Merchante^{a,*}, I. de los Santos-Gil^b, D. Merino^c, M. González-Serrano^d, J.A. Mira^a, L. Cardeñoso^b, E. Fernández-Fuertes^c, J. Ruiz-Morales^d, J.A. García-García^a, J. del Valle^{a*} y J.A. Pineda^{a*}

^aHospital Universitario de Valme, Sevilla. ^bHospital Universitario La Princesa, Madrid. ^cHospital Juan Ramón Jiménez, Huelva. ^dHospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga. *Grupo para el Estudio de la Hepatitis Víricas de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas.

Introducción: La resistencia insulínica (RI) se ha relacionado con una peor tasa de respuesta vírica sostenida (RVS) a interferón pegilado y ribavirina en los pacientes mono infectados por VHC. Se desconoce si la RI predice también la RVS en los individuos coinfectados por VIH y VHC.

Métodos: Se evaluó la posible influencia de la RI en la tasa de RVS en una cohorte multicéntrica de pacientes coinfectados por VIH y VHC que recibieron tratamiento con interferón pegilado y ribavirina. La RI se midió de acuerdo al método homeostasis model assessment (HOMA).

Resultados: Se incluyeron a 155 pacientes en el estudio. Cincuenta y cinco (36%) pacientes lograron una RVS. La mediana (Q1-Q3) del HOMA en los pacientes que lograron una RVS fue 2.40 (1.73-3.97) mientras que fue 3.10 (1.90-4.60) en los no respondedores ($p = 0,17$). Cuarenta y dos (38%) pacientes con un HOMA menor de 4 lograron alcanzar una RVS mientras que 13 (29%) de los pacientes con un HOMA mayor de 4 alcanzó una RVS ($p = 0,27$). Se realizaron análisis usando un valor de corte del HOMA de 2 que mostraron resultados superponibles. En los pacientes con genotipo 1 ó 4 no hubo diferencias en las tasas de RVS de los pacientes con un HOMA menor ó mayor de 4 [19 (27%) vs 7 (24%); $p = 0,8$]. Tras el análisis multivariante los factores que de forma independiente se asociaron con la RVS fueron el genotipo 3 [odds ratio ajustada (ORA) 8.20; intervalo de confianza al 95% (IC) 2.81-23.88; $p < 0,0001$], una carga viral del VHC basal menor de 600.000 UI/mL [ORA 3.16; IC 95% 1.12-8.86; $p = 0,029$] y un colesterol LDL basal mayor de 100 mg/dL [ORA 6.36; IC 95% 1.96-20.67; $p = 0,002$].

Conclusión: La RI no predice la RVS a interferon pegilado y ribavirina en pacientes coinfectados por VIH y VHC.

EL DOMINIO EXTRA A DE LA FIBRONECTINA (EDA) AUMENTA LA INMUNOGENICIDAD DE LA PROTEÍNA NS3 EN UNA VACUNA FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) BASADA EN EL VIRUS DEL BOSQUE SEMLIKI (SFV)

C. Mansilla, E. Casales, N. Casares, M. Martínez, P. Sarobe, F. Borrás-Cuesta, J. Prieto, C. Smerdow y J.J. Lasarte

Área de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada CIMA, Clínica Universitaria, Universidad de Navarra, Pamplona.

El desarrollo de una vacuna frente al virus de la hepatitis C (VHC) es necesaria para el control de esta infección. En este trabajo se plantea la construcción de un virus Semliki (SFV) recombinante que exprese una proteína secretada de fusión entre las proteínas NS3 del VHC y el dominio extra A de la fibronectina (EDA), un ligando natural de *toll like receptor 4* (TLR4), y que nuestro grupo ha mostrado que es un potenciador de la respuesta inmunitaria. La utilización de la proteína EDA podría favorecer el *targeting* del antígeno NS3 a las células dendríticas (CD) que expresan TLR4, y estimular la maduración de las CD para inducir una respuesta inmune celular eficaz frente a la proteína NS3. Por otro lado, la expresión de esta proteína de fusión mediante la utilización de un vector viral como SFV, que induce la apoptosis de las células a las que infecta y permite la expresión de altos niveles de proteína recombinante, puede ser un método eficaz de potenciación de la respuesta inmune antiviral. Hemos construido los virus recombinantes SFV-(EDA-NS3) y SFV-(NS3) que expresan las proteínas EDA-NS3 o NS3 con el péptido señal de la tiorosinasa humana (HTLP) para favorecer su secreción. La infección de células BHK con estos virus permite una expresión equivalente de EDA-NS3 o NS3 (medida por western blot). Sin embargo, cuando inmunizamos ratones transgénicos HHD, (que expresan la molécula HLA-A2) con 10^5 pfu de los SFV recombinantes, encontramos que la respuesta inmune inducida frente a la proteína NS3 es mayor en los ratones que han recibido el SFV-(EDA-NS3). Del mismo modo, la inducción de una respuesta citotóxica frente a células diana incubadas con los determinantes citotóxicos de esta proteína es superior en caso de los ratones inmunizados con el virus recombinante SFV-(EDA-NS3) (medida como producción de IFN-gamma mediante ELISA y ELISPOT o por ensayos de liberación de cromo).

Conclusión: Estos resultados sugieren que la proteína recombinante de fusión entre el dominio extra A de la fibronectina y la proteína NS3 del VHC podría utilizarse en el desarrollo de una vacuna profiláctica o terapéutica frente a la infección por este virus.

LA RESPUESTA VIROLÓGICA PRECOZ PERMITE PREDECIR LA RESPUESTA VIROLÓGICA A LARGO PLAZO EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B

E. Llop, J.L. Calleja, J. de la Revilla, F. Pons, B. Peñas y L. Abreu

Servicio de Gastroenterología y Hepatología. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid.

Introducción y objetivos: El patrón de descenso inicial de la carga viral (CV) durante el tratamiento de la hepatitis crónica B puede influir en la respuesta virológica a largo plazo.

Objetivo: Evaluar la respuesta al tratamiento antiviral durante un 1 año monitorizando el descenso en la CV al mes, 3 y 6 meses y su relación con la respuesta virológica.

Pacientes y métodos: Análisis retrospectivo de 66 pacientes (31 con lamivudina -LAM- y 35 con adefovir -ADF-), recogiendo los valores de DNA VHB y ALT al mes, 3 y 6 meses de tratamiento. Se definió respuesta virológica (RV) como DNA indetectable (< 200 copias mediante Cobas-Core® Roche) y respuesta bioquímica (RB) a la normalización de la ALT (ULN 40 U/L). Se calcularon las modificaciones de CV en logaritmos y porcentajes y se compararon mediante la prueba de t-Student diseñándose posteriormente curvas ROC para definir puntos de corte.

Resultados: Lamivudina: En el grupo con LAM presentaron RV 16/31 (51.6%) y RB 22/31 (70.96%) a los 12 meses. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la edad, sexo, vía

de infección, ALT basal y la presencia de AgHBe entre respondedores (R) y no respondedores (NR). La CV basal era más elevada entre los NR vs los R ($7,01 \pm 1,05$ vs $5,37 \pm 1,16$; $p < 0,001$). Evaluando el descenso en logaritmos y el porcentaje de descenso de la CV respecto a la basal sólo se observaron diferencias en el porcentaje de descenso al mes 3 que fue mayor en R ($49,17 \pm 13,23\%$ vs $38,33 \pm 20,44\%$). Con estos datos se diseñó una curva ROC (AUC = 0,675) y se determinó un punto de corte de descenso $\leq 30\%$ que tuvo un VPN del 80% y una S del 92%.

Adefovir: En el grupo con ADF presentaron RV 20/34 (57,1%) y RB 25/34 (73,5 %) a los 12 meses. No se observaron diferencias significativas en las características basales a excepción de la CV basal (R $4,67 \pm 1,22$ vs NR $5,78 \pm 1,34$; $p = 0,01$). Existió un descenso significativo en logaritmos y en porcentaje de descenso de CV respecto a la basal a los 3 (R $46,55 \pm 13,93\%$ vs NR $19,87 \pm 20,03\%$; R log $2,35 \pm 1,07$ vs NR log $1,28 \pm 1,27$) y 6 meses (R $49,31 \pm 12,73\%$ vs NR $21,09 \pm 19,79\%$; R log $2,55 \pm 1,17$ vs NR log $1,26 \pm 1,24$). Con estos datos se crearon las curvas ROC y se calcularon los mejores puntos de corte a los 3 (AUC% = 0,83; AUC LOG = 0,77) y 6 meses (AUC % = 0,90; AUC LOG = 0,79). Así se obtuvo que al mes 6 un descenso en la CV ≤ 1 log tiene un VPN del 80% con una S del 93% y que un descenso $\leq 20\%$ respecto a la CV basal tiene un VPN del 100% y una S del 100%.

Conclusión: La monitorización precoz de la CV puede predecir la RV al año en los pacientes con hepatitis crónica B, especialmente con ADF, y podría ayudar a identificar precozmente a los pacientes no respondedores.

CAMBIOS EN EL GENOTIPO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B DURANTE EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

R. Jardí^{a,b}, F. Rodríguez-Frias^{a,b}, E. Giggi^c, D. Tabernero^b, M. Schaper^a, R. Esteban^{b,c} y M. Buti^{b,c}

^aBioquímica Hospital Universitario Vall d'Hebrón. ^bCIBEREHD. ^cHepatología Hospital Universitario Vall d'Hebrón.

La estabilidad o variaciones en el genotipo del virus de la hepatitis B (VHB) en el curso de la historia natural de la hepatitis crónica B (HCB) o durante el tratamiento es poco conocida.

Objetivos: Se ha realizado un estudio con el doble objetivo a) análisis transversal para conocer la frecuencia de genotipos mixtos en pacientes con hepatitis crónica B, b) análisis longitudinal retrospectivo para evaluar la posibilidad de cambios en el genotipo del VHB durante la evolución natural de la HCB y durante el tratamiento antiviral con análogos de nucleósidos o nucleótidos.

Pacientes y métodos: Los genotipos del VHB se han analizado en 293 muestras de suero. En el estudio transversal se incluyeron 103 pacientes y en el longitudinal 17 pacientes en tratamiento con lamivudina, o adefovir dipivoxil o ambos y 11 pacientes no tratados. Los genotipos del VHB se han determinado mediante una técnica de hibridación inversa (INNOLIPA. HBV genotyping Assay; Innogenetics NV. Ghent Belgium). El ADN-VHB se determinó por PCR a tiempo real (sensibilidad 5×10^2 copias/mL).

Resultados: En el estudio transversal el genotipo A se detectó en 33 (32%) de los casos, el genotipo D en 43 (42%), el genotipo C en 2 (2%), el genotipo F en 2 (2%), mientras que los genotipos mixtos se detectaron en 23 (22%) pacientes. La combinación más frecuente fue la de los genotipos A y D seguida de la coinfección por los genotipos A y G. La infección con el genotipo G se detectó en 7% pacientes. No se observó relación significativa entre la infección mixta y los niveles de ADN-VHB o la severidad de la enfermedad hepática. En el estudio longitudinal 9 de 17 pacientes tratados presentaron cambios en el genotipo del VHB (1 genotipo A, 5 D, 1 F, 1 AD y AF) con selección del genotipo A en 6 (66%) de los 9 casos (5 con genotipo D y 1 con genotipo AD). En 6 (66 %) pacientes esta selección coincidió con una disminución en los niveles de ADN-VHB. De los 8 pacientes tratados en los que no se observaron cambios en los genotipos 6 eran genotipo A, 1D, y 1 AG. En los 11 casos no tratados el genotipo del VHB se mantuvo estable durante el periodo de seguimiento.

Conclusiones: Los resultados de este estudio muestran la elevada frecuencia de coinfección con diferentes genotipos en la HCB. La selección del genotipo A durante el tratamiento antiviral podría reflejar una sensibilidad diferente al tratamiento antiviral de cada uno de los genotipos. La ausencia de cambio en los pacientes no tratados parece indicar la estabilidad de los genotipos en ausencia de factores externos.

RÁPIDA PROGRESIÓN OBSERVADA DE LA FIBROSIS ENTRE BIOPSIAS HEPÁTICAS SECUENCIALES EN PACIENTES COINFECTADOS POR VIH Y VHC

J. Macías¹, J. Berenguer², A. Arizcorreta³, A. Rivero⁴, A. Gutiérrez⁵, M. González-Serrano⁶, E. Ortega⁷, P. Miralles², S. Vergara¹, J.A. Mira¹ y J.A. Pineda¹

¹H.U. de Valme, Sevilla; ²H.U. Gregorio Marañón, Madrid; ³H.U. Puerta del Mar, Cádiz; ⁴H.U. Reina Sofía, Córdoba; ⁵H.U. Virgen del Rocío, Sevilla; ⁶H.U. Virgen de la Victoria, Málaga; ⁷H.G.U. de Valencia, Valencia.

Introducción: Pocos estudios han evaluado la progresión de la fibrosis observada entre biopsias hepáticas secuenciales en pacientes coinfectados por VIH y VHC. En ellos la progresión de la fibrosis fue más rápida que en los estudios en que se estimó la progresión a partir de una única biopsia hepática (BxH). Cerca de un 50% de los pacientes progresó al menos un estadio y un 25% eran progresores muy rápidos (con incrementos de dos o más estadios entre biopsias). No se esclarecieron cuáles eran los factores de riesgo para progresar. Por ello nuestro objetivo fue evaluar la progresión de la fibrosis observada y sus factores de riesgo en pacientes coinfectados por VIH/VHC.

Métodos: Se incluyeron en este estudio retrospectivo de cohortes a todos los pacientes coinfectados por VIH y VHC en los que se practicaron BxH secuenciales, separadas al menos por un año, si no presentaban otras causas posibles de hepatopatía crónica. Los pacientes con cirrosis (F4) en la primera BxH fueron excluidos. Se usó la clasificación de Scheuer (F0-F4).

Resultados: Se incluyeron 83 pacientes en el estudio. La mediana (Q1-Q3) de tiempo entre ambas BxH fue de 40 (31-65) meses. Sesenta y siete (81%) pacientes recibieron terapia antirretrovírica potente durante el seguimiento, 51 (76%) de ellos mostraron carga viral del VIH indetectable. Dieciocho (50%) de los 36 pacientes que recibieron terapia anti-VHC después de la primera BxH mostraron respuesta al final del tratamiento o curación (ETR/SVR). Los pacientes mostraron los siguientes cambios de estadio: Regresión ≥ 1 estadio: 13 (16%), sin cambios: 36 (43%), progresión ≥ 1 estadio: 34 (41%). Los 44 pacientes con F0-F1 en la BxH inicial, y sin tratamiento anti-VHC, mostraron los siguientes cambios: Regresión ≥ 1 estadio: 5 (11%), sin cambios: 19 (43%), progresión ≥ 1 estadio: 20 (45%). En el análisis multivariante, los factores que se asociaron con progresión ≥ 1 estadio fueron inflamación lobulillar moderada-severa (L0-1 vs L2-4) en la primera BxH: OR ajustada (ORA) (intervalo de confianza 95%, IC95%) 3.3 (1.3-8.7), $p = 0,02$, y ETR/SVR: ORA (IC95%) 0,3 (0,7-0,9), $p = 0,04$.

Conclusiones: La fibrosis hepática progresa frecuentemente en los pacientes coinfectados por VIH y VHC que reciben terapia antirretrovírica potente a lo largo de un periodo de tres años. La inflamación lobulillar moderada-severa en la BxH inicial se asocia con aumento del riesgo de progresar ≥ 1 estadio de fibrosis. La respuesta al tratamiento anti-VHC puede prevenir la progresión.

EL HÁBITO TABÁQUICO EN LA HEPATITIS CRÓNICA C: EFECTO SOBRE LA FIBROSIS Y EL IMPACTO SOBRE LA RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA

A. Madrazo^a, L. Grande^a, L. Lara^b, M. Jover^a, B. Pardo^a y M. Romero-Gómez^a

^aUnidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas y CIBEREHD, Hospital Universitario de Valme, Sevilla. ^bUnidad de Tabaquismo. UGC Neumología. Hospital universitario de Valme. Sevilla.

Introducción: La influencia del hábito tabáquico sobre la progresión de la fibrosis o la respuesta al tratamiento no es bien conocida.

En pacientes tratados con terapia estándar se ha comunicado un descenso de la tasa de respuesta viral sostenida (El-Zayadi AR. *World J Gastroenterol* 2006;12(38):6098-101)

Objetivo: Investigar el papel del consumo de cigarrillos en la progresión de la fibrosis en pacientes con hepatitis crónica C, así como su impacto en la posibilidad de curación.

Métodos: En una cohorte de 106 pacientes consecutivos con hepatitis crónica C [56 hombres y 50 mujeres, edad media 46 ± 10 años, genotipo 1: 86 (82%), genotipo 3: 7 (6,7%) y genotipo 4: 11 (11,3%)] valorados para tratamiento antiviral en nuestra unidad. Mediante una encuesta estructurada y validada se recogió el hábito tabáquico, clasificando en: fumador, exfumador, fumador pasivo o no fumador, así como la cantidad de cigarrillos/día y los años de hábito. Calculamos el número de paquetes*años (paquetes de cigarrillos fumados al día * número de años de hábito (paq*año)). Consideramos hábito tabáquico excesivo un consumo superior a 30 paq*año. Investigamos el consumo de alcohol valorado en gr/día. Analizamos la influencia del hábito tabáquico, junto al consumo de alcohol, esteatosis, índice HOMA, obesidad en la progresión de la fibrosis y en la posibilidad de respuesta sostenida. Utilizamos la regresión logística Backward LR para realizar los análisis multivariantes.

Resultados: Los pacientes con fibrosis avanzada F3-F4 ($n = 19$ (18%)) presentaban mayor resistencia a la insulina ($5,4 \pm 5$ vs $2,8 \pm 1,8$; $p < 0,001$, mayor edad ($52,1 \pm 9$ vs 45 ± 9 años; $p < 0,004$), mayor consumo de tabaco ($22,2 \pm 18$ vs $15,1 \pm 13,9$ paq*año; $p < 0,05$). Encontramos una fuerte asociación entre el consumo de 30 paq*año y la presencia de fibrosis avanzada ($8/19$ vs $10/87$; $p < 0,0001$). En el análisis multivariado las variables independientes asociadas con la fibrosis avanzada fueron el hábito tabáquico mayor de 30 paq*año (O.R. 4,23; IC95%: 1,03-17,4), índice HOMA (O.R. 1,33 (IC95%: 1,04 - 1,69) y la edad O.R. 1,06 (IC95%: 0,19-1,03). La tasa de respuesta sostenida en el grupo de 87 pacientes que concluyeron el tratamiento y 6 meses de seguimiento fue similar entre pacientes fumadores excesivos (9 de 15 (60%)) que en no fumadores excesivos (38 de 72 (53%)); $p = ns$.

Conclusiones: Aunque el tabaquismo no influye en la tasa de respuesta sostenida obtenida con peginterferón y ribavirina, el consumo excesivo de tabaco se asocia de forma independiente a un mayor riesgo de alcanzar fibrosis avanzada. Por tanto, se debería aconsejar la deshabituación tabáquica a todo paciente con hepatitis crónica C.

EL POLIMORFISMO DEL CITOCROMO P-450 1A1 ESTÁ RELACIONADO CON LA FIBROSIS EN LA INFECCIÓN CRÓNICA HCV

G. Moraleda, R. Bárcena y S. del Campo

Servicio de Gastroenterología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Antecedentes: La infección crónica por el virus C de la hepatitis (VCH) se caracteriza por una evolución progresiva de la fibrosis hepática llegando al estado de cirrosis en un período de 20-30 años. Se sabe que los factores genéticos tienen un papel importante en la progresión de la fibrosis. Entre estos factores, el citocromo P-450 (CYPs) parece ser uno de los más importantes. El P-450 constituye una familia de enzimas involucrada en el metabolismo oxidativo de compuestos endógenos (esteroides, ácidos grasos o vitaminas liposolubles) y en el metabolismo de xenobióticos como drogas empleadas en clínica, carcinógenos, etc. Se sabe que existen diferentes polimorfismos del P-450 asociados con distintas enfermedades hepáticas.

Objetivo: Analizar si diferentes polimorfismos del P-450: CYP1A1, CYP1A2, CYP2D6 y CYP2E1 se asocian con fibrosis en la infección por VCH.

Pacientes y métodos: En el estudio se incluyeron 125 pacientes con hepatitis crónica VCH (87 varones y 38 mujeres; edad media \pm DE: $49,9 \pm 10,6$ años). El grado y estado de la fibrosis hepática se analizó mediante el índice de Knodell oscilando entre F0 y F4. Los pacientes se dividieron en 2 grupos en función al estado de fibrosis: F(0-2) ($n = 90$) y F(3-4) ($n = 35$).

Los polimorfismos de los distintos citocromos se analizaron de DNA extraído de células mononucleares de sangre periférica seguido de PCR y digestión con enzimas de restricción (RFLP). La presencia o ausencia de alelos mutantes se correlacionó con el fenotipo de "lento" o "rápido" acetilador, respectivamente.

CYP1A1: El polimorfismo m1/m2 se detectó en la zona 3'-UTR mediante digestión con *MspI* para diferenciar el alelo wt (m1) del mutante (m2).

CYP1A2: La transversión A734C en primer intrón de este gen se analizó mediante digestión con *ApaI*. La presencia de A o C diferencia el fenotipo wt del mutante, respectivamente.

CYP2E1: La región 5' de este citocromo se analizó mediante digestión con *PstI* y *RsaI*. Digestión con *PstI* detecta el alelo wt; digestión con *RsaI* detecta el alelo mutante y digestión con ambas enzimas detecta una combinación de alelos.

CYP2D6: La transición de G1934A se analizó mediante digestión con *BstNI*. Los fragmentos no digeridos confirman la mutación G1934A y por lo tanto el genotipo de lento acetilador.

Resultados: Al analizar el CYP1A1, la frecuencia de alelo wt y mutante en el grupo F(0-2) fue 85,5% (77/90) y 14,5 % (13/90), mientras que el grupo F(3-4) fue 63% (22/35) y 37% (13/35), respectivamente. La frecuencia de fenotipo mutante y por tanto de lento acetilador fue significativamente mayor en el grupo F(3-4) que en el F(0-2) (37% vs 14,5%, $p < 0,007$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al analizar los citocromos CYP1A2, CYP2E1 y CYP2D6.

Conclusión: Existe una asociación entre lento acetilador del CYP1A1 y evolución defibrosis en la infección por VCH.

LA RESISTENCIA INSULÍNICA SE CORRELACIONA CON LA FIBROSIS HEPÁTICA EVALUADA POR ELASTOMETRÍA HEPÁTICA TRANSITORIA EN PACIENTES COINFECTADOS POR VIH Y VHC

N. Merchante, J. del Valle, S. Vergara, J. Macías, J.A. García-García, J.A. Mira, E. Recio, J. Castillo, F. Lozano y J.A. Pineda
Hospital Universitario de Valme, Sevilla.

Introducción y objetivo: La fibrosis hepática ocasionada por el VHC y los factores que influyen en su progresión son uno de los aspectos más importantes en el manejo de los pacientes coinfectados por VIH y VHC. La elastometría hepática transitoria es una técnica que permite estimar de forma no invasiva la fibrosis hepática a partir de los valores obtenidos de rigidez hepática (RH) y que ha sido validada en los pacientes coinfectados por VIH y VHC. Por otra parte, la resistencia insulínica (RI) es un fenómeno frecuente en la hepatitis crónica por VHC. Estudios previos sugieren que la RI se asocia con el grado de fibrosis hepática y promueve la progresión de la misma en los individuos mono infectados por VHC. Sin embargo se desconoce si la RI también influye en la progresión de la fibrosis hepática en los pacientes coinfectados por VIH y VHC.

Métodos: Se evaluó la posible relación de la RI con la presencia de fibrosis hepática significativa en una cohorte de pacientes coinfectados por VIH y VHC en los que se practicó una determinación de RH mediante elastometría hepática transitoria como parte de su evaluación general en las consultas de nuestra Unidad. La presencia de una RH $\geq 7,2$ kilopascales (Kpa) fue considerada indicativa de la existencia de fibrosis hepática significativa. La RI se midió de acuerdo al método *homeostasis model assessment* (HOMA).

Resultados: Se incluyó a 73 pacientes en el estudio. Treinta (41%) pacientes mostraron una RH $\geq 7,2$ Kpa. Los valores de RH y HOMA mostraron correlación directa (Coeficiente de correlación lineal Ro de Spearman: 0,34, $p = 0,003$). La mediana (Q1-Q3) del HOMA de los pacientes con una RH $\geq 7,2$ Kpa fue 2,99 (2,06-3,85) mientras que la de los pacientes con una RH $< 7,2$ Kpa fue 2,01 (1,49-2,89) ($p = 0,02$). Siete pacientes (23,3%) con un HOMA < 2 mostraron una RH $\geq 7,2$ Kpa mientras que 23 (76,7%) de aquellos con un HOMA ≥ 2 mostraron una RH $\geq 7,2$ Kpa ($p = 0,02$). Se observaron diferencias similares cuando se usaron otros puntos de corte del HOMA. Los factores que en el análisis multivariante se asociaron de forma independiente con la presencia de una RH $\geq 7,2$

Kpa fueron la presencia de un recuento de células CD4 < 200 cels/mL [Odds Ratio Ajustada (ORA) 10,14; intervalo de confianza (IC) al 95% (0,93-110,4); p = 0,05] y un HOMA \geq 2.4 [ORA 3.87; IC 95% (1.04-14.32); p = 0,04].

Conclusiones: La RI se correlaciona con la presencia de fibrosis hepática significativa evaluada por elastometría hepática transitoria en los individuos coinfectados por VIH y VHC.

IMPACTO DE UN PROGRAMA MULTIDISCIPLINAR DE SOPORTE EN LA ADHERENCIA Y LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C

M. García-Retortillo^a, I. Cirera^a, M.D. Giménez^a, C. Márquez^a, J.A. Galeras^a, P. Castellví^a, R. Navinés^b, E. Clot^c, E. Salas^c, F. Bory^a, R. Martín-Santos^b y R. Solà^a

^aSección de Hepatología, Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. ^bServicio de Psiquiatría, Hospital del Mar / Unitat d'Investigació en Farmacologia, Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM). ^cServicio de Farmacia, Hospital del Mar.

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

Objetivo: Evaluar el impacto de un programa de atención multidisciplinario (PAM) en el cumplimiento y en la eficacia del tratamiento de la hepatitis C.

Método: Doscientos setenta y ocho pacientes naïve con hepatitis C consecutivos que iniciaron tratamiento en la Sección de Hepatología del Hospital del Mar de Junio 2001 a Junio 2006. Todos los pacientes fueron tratados con Peg-IFN alfa-2a 180 µg/semana y ribavirina (RBV) (G1/4:1000-1200, 12 meses G2/3: 800, 6 meses). Los pacientes se dividen en dos grupos: Grupo 1: 131 pacientes incluidos en el PAM y Grupo 2: 147 pacientes controlados de forma convencional. El equipo del PAM incluye hepatólogos, enfermeras, farmacéutico, psicólogo y psiquiatra y comprende información estandarizada al paciente, programación abierta y flexible, manejo protocolizado de los efectos secundarios. Se consideró como cumplimiento cuando el paciente recibía el 80 % de la dosis total prescrita de ambos fármacos durante el 80 % del tiempo de tratamiento.

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

	Grupo 1	Grupo 2	P
Cumplimiento (%)	94,6	78,9	0,0001
Retirada (%)	5,3	10,2	NS
Dosis < 80 % (%)	0	12,9	0,0001
Dosis Peg-IFN 100% (%)	93,9	80,9	0,001
Dosis RBV 100 % (%)	90,8	73,5	0,0002
Respuesta sostenida (%)	77,1	61,9	0,006
Genotipo 1	66,7	48,1	0,03
Genotipo 2/3	87,7	81,4	NS

Realizaron tratamiento psiquiátrico 45 (34,3%) y 34 (23,1%) pacientes de cada grupo (P 0,04). Durante el tratamiento, la hemoglobina descendió a < 10 mg/dl en el 17,6 y 22,4 % de los pacientes de cada grupo (P: NS) aunque solo se utilizó EPO en el 5,3 y 4,1 % respectivamente.

Conclusiones: El programa de atención multidisciplinaria mejora el cumplimiento del tratamiento de la hepatitis C y aumenta su eficacia especialmente en pacientes con genotipo 1.

INFLUENCIA DE LA INMIGRACIÓN EN EL NÚMERO Y CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON HEPATITIS C

M. García-Retortillo, M.D. Giménez, C. Márquez, I. Cirera, S. Coll, F. Bory, A. Planas y R. Solà

Sección de Hepatología, Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

En los últimos años se ha registrado un incremento de la población inmigrante en nuestro país la cual en la ciudad de Barcelona alcanza el 6,5 %. En muchos casos los inmigrantes proceden de países con alta prevalencia de hepatitis C.

Objetivo: Investigar la influencia de la inmigración en las características de los nuevos pacientes con hepatitis C.

Método: Hemos incluido un total de 2398 nuevos pacientes con hepatitis C diagnosticados en el período 1995-2007 en la Sección de Hepatología del Hospital del Mar, 511 de los cuales presentaban coinfección por el VIH. Los 1855 pacientes mono-infectados se dividieron en dos grupos según el período de diagnóstico: 1995-2000, 783 pacientes y 2001-2007, 1072 pacientes. Hemos comparado las características demográficas y clínicas de estos dos grupos.

Resultados: El número de pacientes/año fue de 131 y 165 en ambos períodos. Dicho incremento fue debido a un mayor porcentaje de pacientes inmigrantes que pasó del 6,6 % al 24,4 % (P < 0,0001) mientras que el número de nuevos pacientes españoles se ha mantenido estable (122 y 124 pacientes/año, respectivamente). La edad media de los pacientes resultó similar (47 ± 1 y 49 ± 1 años) aunque el porcentaje de pacientes con edad inferior a 35 años ha disminuido en el segundo período (29,5 a 23,9%; P = 0,007) a expensas de la población autóctona (28,3 a 16,2 %; P < 0,0001) mientras que el porcentaje se mantiene estable en la población inmigrante (46,2 y 47,7%). El área de procedencia de la población inmigrante ha variado significativamente predominando en el último período la población asiática (28,8 vs 56,1% respectivamente) frente a la población americana (32,7 y 16%) y africana (19,2 y 9 %) (P = 0,002). La prevalencia de pacientes con genotipo 1 ha descendido significativamente del 75 al 59 % registrándose un incremento paralelo de los pacientes con genotipos 2/3 del 17,7 al 34,1 % (P < 0,0001). Los pacientes con genotipo 4 mantienen una frecuencia similar (7 y 6,7%). El porcentaje de pacientes con cirrosis, compensada o descompensada, en el momento del diagnóstico fue similar en ambos períodos (17,1 y 17,2%). Realizaron tratamiento antivírico 326 (41,6%) y 482 (44,9%) pacientes en cada período (P: NS) registrándose un significativo aumento en el número de tratamientos realizados en la población inmigrante (7,7 y 31,9%; P < 0,0001).

Conclusiones: El aumento en la población inmigrante de origen asiático comporta un incremento en el número de pacientes con hepatitis C que repercute notablemente en el genotipo predominante y en el porcentaje de pacientes candidatos a tratamiento antivírico.

INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO Y DE LA RESPUESTA VIROLÓGICA EN LA CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD DE LOS PACIENTES CON HEPATITIS C

P. Castellví, M. García-Retortillo, M.D. Giménez, C. Márquez, I. Cirera, S. Coll, F. Bory y R. Solà

Sección de Hepatología, Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

La hepatitis C y el tratamiento con interferón disminuyen la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) de los pacientes. Sin embargo, los datos sobre el impacto del tratamiento con interferón pegilado (Peg-IFN) y ribavirina en la CVRS de los pacientes con hepatitis C se han obtenido en la mayoría de los casos a partir de los estudios clínicos de registro.

Objetivo: Evaluar el impacto del tratamiento en la calidad de vida de los pacientes con hepatitis C.

Métodos: Se han incluido un total de 203 pacientes (edad 44 ± 1; hombres 59,6 %) con hepatitis C no tratados previamente que iniciaron tratamiento con Peg-IFN alfa-2a y RBV entre 2003 y 2006. Treinta y ocho pacientes (18,9%) tenían coinfección VIH. Todos los pacientes completaron el cuestionario de salud SF-36 antes y a 1, 3, 6 y 12 meses durante el tratamiento y 6 meses después de finalizarlo. Durante el tratamiento se utilizó la media obtenida en las diferentes evaluaciones.

Resultados: La CVRS de los pacientes con hepatitis C aparece afectada especialmente en los aspectos físicos y de salud general y disminuye significativamente durante el tratamiento en todos los aspectos excepto en la percepción de salud general. No se evidenciaron diferencias significativas en el impacto en la CVRS en relación al tipo de respuesta virológica durante el tratamiento excepto en la vitalidad que empeoró más en los pacientes con respuesta virológica lenta. Tras el tratamiento no se observaron diferencias en los dis-

tintos aspectos de la CVRS en relación a los valores basales a excepción de la percepción de salud general que mejoró significativamente. Los pacientes con respuesta virológica sostenida presentaron una significativa mejoría en el rol emocional (de 73 ± 5 a 85 ± 3 ; $P = 0,02$) la cual no se registró en otros aspectos.

	Basal	Durante	6 meses post.
Función física	82 ± 1	$69 \pm 1^*$	82 ± 1
Rol físico	74 ± 3	$48 \pm 2^*$	75 ± 3
Dolor corporal	69 ± 2	$58 \pm 1^*$	72 ± 2
Salud general	54 ± 2	54 ± 1	$62 \pm 2^*$
Vitalidad	60 ± 2	$44 \pm 2^*$	62 ± 2
Función social	82 ± 2	$68 \pm 2^*$	79 ± 1
Rol emocional	82 ± 2	$73 \pm 2^*$	80 ± 2
Salud mental	70 ± 1	$65 \pm 1^*$	72 ± 1

*P significativa basal-durante; #P significativa antes y 6 meses después del tratamiento.

Conclusiones: La CVRS se deteriora notablemente durante el tratamiento de la hepatitis C. Seis meses después de finalizar el tratamiento, los pacientes con respuesta virológica sostenida no presentan una mejoría significativa en la CVRS excepto en el rol emocional.

PERFIL CLÍNICO DE LOS PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA TRATADOS EN CATALUÑA DURANTE EL PERIODO 2001-2005

M. Rabanal, M.J. Gaspar, N. Rams, T. Casanovas, X. Forns, R. Planas y R. Solà

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

Hoy en día se asume que el éxito del tratamiento farmacológico de pacientes con hepatitis C crónica depende, por un lado, de las características individuales del paciente como el sexo, edad en que se inicia la enfermedad o niveles de transaminasas y por otro, de factores relacionados con el propio virus como el genotipo y el grado de replicación viral que condicionan la duración del mismo y evolución de la enfermedad.

Objetivo: Definir las características clínicas de los pacientes tratados en Cataluña durante el periodo 2001-2005.

Métodos: Análisis epidemiológico retrospectivo de los casos de hepatitis C crónica tratados en los hospitales de Cataluña durante el periodo 2001-2005 según la base de datos del Consell Assessor del Tractament Farmacològic de les Hepatitis Viriques de la Generalitat de Catalunya.

Resultados: En los 5 años, se autorizó el tratamiento a 8871 pacientes con hepatitis C crónica. El 68,2% fueron de sexo masculino y la edad de los hombres en que se efectuó la solicitud de tratamiento se situó entre los 30 y los 49 años en el 72,4% de los casos. En el caso de las mujeres, el intervalo de edad fue mayor y comprendió desde los 30 hasta los 59 años (79,8% de los casos). El 10,6% de los hombres presentó niveles normales de transaminasas (ALT < 25UI) mientras que en las mujeres dicho porcentaje fue del 9,8% (ALT < 19UI). Respecto a los factores virales, el 59,3% de los tratados presentaban el genotipo 1b, aumentando hasta el 64,3% el total de pacientes con genotipo 1. Un 4,4% presentaron genotipo 2, el 21,4% genotipo 3 y el 9,9% genotipo 4. Cabe destacar un incremento significativo de la población de genotipo 3 durante el periodo 2004-2005 (23%) respecto los 3 primeros años (19,9%). Paralelamente, se observó que la población mayor de 50 años era mayoritariamente genotipo 1 (83,8% de los casos) y el genotipo 3 sólo afectaba al 6,17% de los casos. En cambio, en la edad entre 20 y 50 años, más del 25% de los pacientes presentaban genotipo 3 y un 58% presentaban genotipo 1. Además, el 38,4% de los pacientes presentaron un ARN-VHC < 400.000 UI/ml, el 53,9% un ARN-VHC < 600.000 UI/ml y el 65,5% un ARN-VHC < 800.000 UI/ml. En el caso concreto de los enfermos de genotipo 1, dichos porcentajes se redujeron al 34,7%, el 50,8% y el 63,1% respectivamente.

Conclusión: A pesar de la diversidad de casos, el perfil clínico en

Cataluña tiende a ser de mal pronóstico ya que predomina el paciente de sexo masculino con genotipo 1, transaminasas elevadas y un elevado grado de replicación viral. No obstante, se observa un incremento significativo de los casos de genotipo 3 en grupos de edad joven probablemente asociado al factor de la inmigración.

EFICACIA DE LA VACUNA CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

L. Vida Pérez, F. Gómez-Camacho, E. Iglesias Flores, M.V. García Sánchez, L. Castillo Molina, A. Cerezo Ruiz, L. Casáis Juanena, J.M. Ángel Rey, C. Llamaza Torres y J.F. De Dios Vega

Unidad Clínica de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: Aunque no parece existir un aumento en la prevalencia de la infección del virus de la hepatitis B (VHB) en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), se especula, que la necesidad de exploraciones invasivas, cirugía, transfusión de hemoderivados y/o uso de fármacos inmunomoduladores, sitúe a estos pacientes dentro de un grupo de riesgo para contraer esta infección. Sin embargo, hasta el momento, no existen recomendaciones para la vacunación del VHB en estos pacientes ni se conoce cuál es su tasa de eficacia ni los factores que pueden influir en su resultado.

Objetivos: Evaluar la eficacia de la vacuna contra el VHB en pacientes con EII y las causas que influyen en su resultado.

Pacientes y métodos: Se incluyeron en el estudio a 129 pacientes con EII que recibieron la vacuna según el esquema clásico de 3 dosis (0-1-6 meses). El testeo de Ac-HBs se realizó entre uno o dos meses después de la última dosis. La respuesta de anticuerpos protectores adecuados fue considerada cuando se alcanzaron niveles superiores a 10mUI/ml. Se recogieron datos clínicos relacionados con la enfermedad y el uso de fármacos inmunomoduladores recibidos antes o durante el periodo de vacunación, haciendo referencia a las dosis y tiempo de exposición.

Resultados: La edad media fue $36,4 \pm 15$ años siendo 78 hombres (60,5%). Setenta y uno (55%) tenían una colitis ulcerosa (CU): 45 colitis distal y 26 colitis extensa/pancolitis, y 58 (45%) una enfermedad de Crohn (EC): 20 L1, 12 L2, 23 L3 y 3 L4. Treinta y cinco (60,3%) de los pacientes con EC eran B1. La duración media de la enfermedad fue $71 \pm 55,41$ meses. Cincuenta y tres pacientes (41,1%) habían recibido algún tratamiento inmunosupresor previo a la vacuna y la mayoría combinaron varios de ellos. Cincuenta y cinco (42,6%) recibieron corticoides, 53 (41,1%) inmunosupresores, siendo el más frecuente la azatioprina (92,5%) y 10 (7,8%) terapias biológicas. El tiempo de exposición del fármaco inmunosupresor o terapias biológicas hasta la vacunación fue de $29,58 \pm 20,17$ meses. En 84 (65,1%) la vacuna no indujo una respuesta adecuada: 35 no crearon Ac-HBs y 49 desarrollaron títulos < 10 mUI/ml. El único factor implicado en la respuesta a la vacuna fue la edad, los pacientes más jóvenes tuvieron una mayor eficacia ($30,91 \pm 14,8$ vs $39,91 \pm 14,2$ años, $p < 0,001$).

Conclusión: Más de la mitad de los pacientes con EII no consiguieron una respuesta adecuada a la pauta de vacuna clásica contra el VHB. Ni el tipo, dosis o tiempo de exposición previa a la vacuna de fármacos inmunomoduladores, influyó en la menor eficacia a la vacunación. Sin embargo, los pacientes más jóvenes respondieron mejor. Es posible que la propia enfermedad sea causa de una menor respuesta y que estos pacientes requieran un esquema de vacunación más intenso.

RESULTADOS DE UNA ENCUESTA SOBRE LOS CONOCIMIENTOS DEL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA B DE LOS MÉDICOS ESPAÑOLES

I. Les, R. García-Martínez, J. Córdoba, M. Quintana, M. Buti y R. Esteban

Servicio de Hepatología-Medicina Interna. Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción y objetivo: El diagnóstico y el tratamiento de la hepatitis crónica B (HCB) han mejorado sensiblemente en los últimos

años con la introducción de los nuevos antivirales orales y la determinación del ADN-VHB. El objetivo de este estudio fue analizar los conocimientos y la actitud diagnóstica y terapéutica de los médicos que tratan HCB en nuestro país.

Materiales y métodos: En Febrero de 2007, a través de la Asociación Española para el Estudio del Hígado, se distribuyó un cuestionario entre 692 médicos. El cuestionario analizaba: 1) los datos demográficos y la experiencia de los médicos; 2) los conocimientos sobre la HCB, y 3) la actitud ante dos casos hipotéticos de HCB, uno HBeAg positivo y otro HBeAg negativo.

Resultados: Ciento diecinueve (17%) médicos respondieron al cuestionario. La mayoría eran gastroenterólogos de hospitales universitarios con más de 10 años de experiencia y que trataban más de 5 pacientes con HCB al año. Las indicaciones del tratamiento de la HCB eran conocidas por el 95% de los encuestados, pero sólo el 78% indicaba profilaxis con antivirales a los portadores inactivos del VHB que requerían inmunosupresión. Esta actitud era más frecuente entre médicos de hospitales universitarios (86% vs 65%, $p = 0,009$). El 76% trataba la HCB HBeAg positivo con interferón estándar o pegilado durante 12 meses y el 86% recomendaba un antiviral oral para los pacientes con HCB HBeAg negativo de forma prolongada (42% con lamivudina, 36% con adefovir y 8% con entecavir). La mayoría de los encuestados poseía experiencia con lamivudina (89%), con adefovir (84%) y con interferón (76%), pero sólo el 45% conocía los resultados de eficacia de estos fármacos. El 74% controlaba a los pacientes determinando el ADN-VHB. Sólo el 24% utilizaba técnicas de detección de resistencias a antivirales, lo cual era más frecuente en médicos que trataban más de 10 pacientes al año (41% vs 14%, $p = 0,001$). La única variable que se asociaba en el análisis multivariado al conocimiento de los fármacos y de la monitorización de la HCB era tratar más 5 pacientes por año.

El cribado de los familiares y la vacunación antihepatitis B eran realizados por el 85% de los médicos con más de 10 años de ejercicio y por el 72% de los médicos con menos de 10 años. No existía una asociación con el número de pacientes tratados al año.

Conclusiones: La mayoría de los médicos españoles tiene una experiencia limitada en el seguimiento y el tratamiento de los pacientes con HCB. La educación médica continuada podría incrementar los conocimientos sobre esta enfermedad y mejorar el tratamiento de los pacientes.

EVALUACIÓN DE LOS FACTORES CON IMPACTO EN LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS EN PACIENTES VIH CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C EN LA ERA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DE GRAN ACTIVIDAD (TARGA)

A. Moreno^a, A. Muriel^b, S. Diz^a, A. Moreno^c, L. Moreno^a, M.J. Pérez-Eliás^a, C. Quereda^a, R. Bárcena^d, J.L. Casado^a, A. López San Román^d, M. García^d, L. Gil-Grande^d, F. García-Hoz^d y S. Moreno^a

Servicios de Enfermedades Infecciosas^a, Bioestadística^b, Anatomía Patológica^c, Gastroenterología^d Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Desde la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), existe gran controversia sobre los factores predictores y el potencial efecto del tipo de régimen de TARGA sobre la velocidad de progresión de la fibrosis (VPF) en pacientes coinfectados por VIH y VHC.

Métodos: Evaluar, mediante análisis univariable y multivariable de regresión logística, en 302 pacientes VIH consecutivos con fecha conocida de adquisición del VHC, HBsAg(-), sin tratamiento previo frente al VHC, ARN-VHC (+), y biopsia hepática (BH) realizada entre Enero 1998-Mayo 2007, los factores que pueden influenciar una mayor VPF (punto de corte, $VPF > 0,1$).

Resultados: La mayoría fueron varones (75%), ADVP (92%), genotipo 1 ó 4 ($n = 237$, 80%), de edad media 40 ± 5 años, y SIDA previo en 94 (31%). La mediana de tiempo de infección VHC fue de 20 años (3-31); 52% habían recibido tanto inhibidores de proteasa (IP) como nucleósidos (NNRTI). La mediana de tiempo en IP y NNRTI fue de 34 (2-108) y 18 (1-92) meses, respectivamente. En el momento de la

BH, la mediana de CD4 era 473 células/ml; 64% tenían carga viral VIH $< 1,7 \log_{10}$ copias/ml; 86% recibían tratamiento antirretroviral, bien NNRTI (35%) ó IP (33%). La mediana de GOT 56 U/l (12-909), GPT 75 U/l (11-578), GGT 141 U/l (12-2076), FA 100 U/l (36-4388). La BH demostró fibrosis severa ($F \geq 3$) en 106 (35%), y la mediana del IAH fue 5. La mediana estimada de VPF fue 0,09 unids/año (RIQ 0,05-0,15), con valores $> 0,1$ unids/año en 128 (42%). En el análisis univariable, la exposición a IP ($p = 0,032$) y, en el momento de la BH, valores de GGT ≥ 100 U/l ($p = 0,02$) y cifras menores de CD4 ($p = 0,03$) se asociaron a valores de VPF $> 0,1$, pero no el haber sido ADVP ($p = 0,8$), la exposición o tiempo en NNRTI ($p = 0,78$ y $p = 0,34$), el tiempo en IP (0,17), o ser naive a TARGA ($p = 0,12$). En el análisis multivariable, se mantuvo la asociación entre valores de VPF $> 0,1$ unids/año y la exposición a IP (OR 1.861, 95%CI 1.031-3.359, $p = 0,039$) y cifras de GGT ≥ 100 U/l (OR 1.743, 95%CI 1.070-2.838, $p = 0,026$). Respecto a aquellos pacientes nunca expuestos a IP, los pacientes tratados alguna vez con IP eran mayores (mediana 40 vs 38 años, $p = 0,033$), con una mayor incidencia de SIDA previo (36% vs 14%, $p = 0,001$), menor nadir de CD4 (146 vs 250 células/ml, $p = 0,001$), o con más frecuencia habían tenido en algún momento del seguimiento cifras de CD4 < 200 células/ml (66% vs 26%, $p = 0,001$).

Conclusiones: En nuestra cohorte de pacientes coinfectados VIH/VHC, la exposición a IP y cifras de GGT ≥ 100 U/l en el momento de la BH se asociaron a una mayor VPF. Sin embargo, entre los pacientes con experiencia a IP existió una frecuencia significativamente mayor de factores asociados a severidad histológica, como una mayor edad, y el haber presentado inmunodepresión severa y/o SIDA.

Trasplante hepático

EFICACIA Y SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA POR EL VHC EN LISTA DE ESPERA DE TRASPLANTE HEPÁTICO (TH): ESTUDIO CASOS Y CONTROLES

J.A. Carrión^a, E. Martínez-Bauer^a, G. Crespo^a, J.C. García-Valdecasas^b, M. Navasa^b y X. Forns^a

^aServicio de Hepatología, ^bCirugía Hepática y Trasplante. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, IDIBAPS, Ciberehd. Barcelona.

Una de las estrategias para prevenir la infección del injerto por el VHC tras el TH es eliminarlo previamente. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la eficacia y seguridad del tratamiento antiviral en pacientes con cirrosis hepática por el VHC en lista de espera de TH. Desde noviembre-03 hasta enero-06 se incluyeron 51 pacientes con cirrosis por el VHC en lista de espera de TH que recibieron tratamiento con interferón pegilado alfa-2a (180 µg/sem) y ribavirina (0,8-1g/d). Como grupo control se seleccionaron 51 pacientes (diciembre-99 a enero-05) pareados por edad, sexo, Child-Pugh, MELD y tiempo en lista de espera de TH. Ambos grupos, casos y controles, eran comparables respecto al genotipo infectante (G1: 80% vs 82%), carga viral (ARN-VHC: 5.71 vs 5.67 \log_{10} UI/ml), tiempo en lista de espera (36 vs 34 semanas), MELD (11 vs 11) y descompensaciones previas (49% vs 64%). La duración mediana del tratamiento fue de 15 semanas. En el momento del TH, el ARN-VHC era indetectable en 15 (29%) de los 51 pacientes tratados. La respuesta virológica se mantuvo un mínimo de 6 meses tras el TH en 10 (20%). La respuesta viral precoz y el genotipo "no 1" fueron los factores predictivos más potentes asociados a respuesta virológica. En todos los pacientes del grupo control se produjo infección del injerto por el VHC. Respecto a la seguridad del tratamiento se observó una tendencia a presentar más episodios de infecciones bacterianas en el grupo de pacientes tratados respecto al grupo control (18 vs 12) (log-rank = 0,08). Entre los pacientes que no recibieron profilaxis antibiótica con norfloxacino ($n = 83$) el número de episodios de peritonitis bacteriana y/o bacteriemia espontánea fue mayor en los pacientes tratados que en el grupo con-

tról (9 vs 4) (log-rank = 0,05). Nuestro estudio demuestra que el tratamiento antiviral en pacientes con cirrosis por el VHC y en lista de espera de TH previene la infección del injerto en el 20% de los casos. Sin embargo el tratamiento antiviral parece asociarse a un mayor riesgo de infecciones bacterianas severas.

TRASPLANTE HEPÁTICO EN PACIENTES VHC. RESULTADOS EN PACIENTES COINFECTADOS (VHC-VIH) Y MONOINFECTADOS (VHC)

M. Testillan, J.R. Fernández Ramos, M.J. Suárez, M. Gastaca, J. Bustamante, J.I. Pijoan, M. Montejo, A. Valdivieso y J. Ortiz de Urbina

Unidad de Hepatología, Cirugía Hepatobiliar y Trasplante Hepático. Hospital de Cruces. Baracaldo - Vizcaya.

Se ha descrito una peor evolución en pacientes trasplantados coinfectados por Virus Hepatitis C (VHC) y Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) que en mono infectados VHC, debido a una recurrencia por VHC más agresiva post-trasplante, que puede afectar a la supervivencia. Nuestro estudio compara la evolución de ambos grupos de pacientes, la recurrencia de la infección por VHC y la supervivencia.

Pacientes y métodos: Entre octubre 2003-abril 2006 se trasplantan 52 pacientes con infección VHC en nuestro Centro. Un paciente (coinfectado) fallece al 5º día de la intervención y se excluye de este análisis. Se comparan 9 pacientes coinfectados (VHC-VIH) y 42 pacientes mono infectados (VHC). Todos los pacientes coinfectados cumplían los criterios establecidos en el documento de consenso de la SETH- GESITRA al ser incluidos en lista de espera. La inmunosupresión fue igual en los dos grupos: tacrolimus y esteroides en pauta descendente lenta. Se define recurrencia agresiva por VHC la presencia de daño colostático y/o fibrosis ≥ 2 , al primer año post-trasplante.

Resultados: Los pacientes coinfectados fueron más jóvenes que los mono infectados ($44 \text{ años} \pm 7$ vs $55 \text{ años} \pm 9$; $p = 0,0024$). No hubo diferencias en el score MELD, edad del donante, genotipo y carga viral de VHC pretrasplante, entre los dos grupos. Dos pacientes coinfectados (22%) y 6 mono infectados (14%) presentaron rechazo celular agudo ($p = \text{ns}$). Seis pacientes coinfectados (66%) y 19 de 40 pacientes mono infectados biopsiados al primer año (47%) presentaron recurrencia severa por VHC ($p = \text{ns}$). Hubo un caso de hepatitis colostática fibrosante en coinfectados y dos en mono infectados. La mediana de tiempo de seguimiento fue 841 días. No hubo diferencias en la supervivencia a 2 años entre ambos grupos (85% vs 92%; log-rank = 0,248).

Conclusiones: La recurrencia histológica por virus Hepatitis C al primer año del trasplante es similar en pacientes coinfectados con VIH y mono infectados.

No hay diferencias en la supervivencia a corto plazo (2 años) entre ambos grupos de pacientes.

NIVELES SÉRICOS DE IL-17 E IL-23 EN PACIENTES TRASPLANTADOS HEPÁTICOS ESTABLES A LARGO PLAZO

E. Fábrega^a, M. López-Hoyos^b, D. San Segundo^b y F. Pons-Romero^a

^aServicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. ^bServicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Los mecanismos implicados en la regulación de la respuesta inmune son complejos y en la actualidad carecemos de marcadores que nos permitan identificar a los receptores de trasplante hepático (TH) que han desarrollado tolerancia y pueden abandonar el tratamiento inmunosupresor. Recientemente se ha descrito una nueva vía de respuesta inflamatoria de las células T CD4+ independiente de la diferenciación hacia Th1 o Th2. Se trata de las células Th17 que poseen una gran capacidad inflamatoria y actúan a través de la secreción de IL-17. La diferenciación hacia estas células depende fundamentalmente de la IL-23.

Objetivo: Cuantificar los niveles séricos de IL-17 e IL-23 en pacientes sometidos a TH estables a largo plazo y determinar si distintos grados de inmunosupresión tienen influencia en dichos niveles.

Material y métodos: Se estudiaron 33 pacientes receptores de TH en monoterapia con ciclosporina A o FK506 con función hepática estables

y libres de episodios de rechazo con un seguimiento mínimo de 8 años. Los pacientes los dividimos en dos grupos: 13 pacientes con niveles en rango terapéutico y 20 pacientes con niveles subterapéuticos de anticineurínicos. Como grupo control se incluyeron 38 sujetos sanos.

Resultados: Los pacientes trasplantados tenían niveles de IL-17 e IL-23 semejantes a los controles sanos. Cuando se compararon los niveles de acuerdo a la carga inmunosupresora se comprobó que los pacientes con niveles subterapéuticos en tratamiento con FK-506 mostraban una menor concentración de IL-17 e IL-23 que los que los tenían en rango terapéutico. Este efecto no se observó con ciclosporina A.

Conclusiones: Los resultados preliminares obtenidos en nuestros pacientes demuestran una falta de activación de las citocinas propias de una respuesta de células Th17, siendo esta más marcada en el subgrupo de pacientes tratados con FK506. Por tanto, estos resultados podrían ayudar a identificar a los pacientes subsidiarios de ser incluidos en protocolos de tolerancia operacional.

Este trabajo ha sido financiado en parte por beca FIS PI030330.

EFFECTO ANTITUMORAL DE VECTORES BASADOS EN EL VIRUS DEL BOSQUE DE SEMLIKI QUE EXPRESAN IL-12 EN TUMORES DESARROLLADOS EN EL HÍGADO

J.R. Rodríguez-Madoz, M. Zabala, E. Casales, M. Ruiz-Guillén, M. Alfaro, J. Prieto, M.G. Kramer y C. Smerdou

Los vectores basados en el virus del Bosque de Semliki (SFV) que expresan interleuquina 12 han mostrado una alta eficacia antitumoral en el tratamiento de tumores sólidos tras la administración intratumoral. Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han basado en el tratamiento de tumores implantados subcutáneamente. El objetivo de este trabajo fue la evaluación de la eficacia antitumoral de los vectores de SFV que expresan IL-12 en el tratamiento de tumores implantados en el hígado. Para ello se han utilizado dos modelos de tumores inducidos y uno de tumores desarrollados espontáneamente. Los primeros dos modelos se basaron en la implantación intrahepática de la línea celular de hepatocarcinoma McA-RH7777 en ratas búfalo, o de la línea de adenocarcinoma de colon MC38 en ratones C57BL/6, respectivamente. La administración intratumoral de 10^8 pv (partículas virales) de un vector de SFV que expresa la IL-12 murina indujo más de un 70% de remisiones tumorales completas en el modelo de rata, con 10 animales curados de un total de 14 tratados, aunque la expresión de IL-12 sólo fue detectable en 4 animales. Por otra parte, en el modelo de ratón, la administración intratumoral de la misma dosis de SFV-IL-12 indujo un 50% de remisiones tumorales completas (8 de 16), siendo en este caso detectable la presencia de la citoquina en todos los animales tratados. En ambos casos la toxicidad asociada al tratamiento fue mínima sin que se observara un aumento significativo de las transaminasas en los grupos tratados respecto a los animales control.

Respecto al modelo de tumores espontáneos se utilizaron ratones transgénicos L-PK/c-myc que desarrollan tumores hepáticos tras varios meses consumiendo una dieta rica en sacarosa. En este modelo la inyección intratumoral de 10^8 pv de SFV-enh-IL-12 indujo una disminución del crecimiento tumoral en el 66% de los tumores, incrementando la tasa de supervivencia de los animales hasta un 90%, frente a un 15% observado en el grupo control tratado con salino. Estos resultados muestran que los vectores basados en SFV que expresan IL-12 constituyen un buen candidato para el tratamiento de tumores sólidos desarrollados en el hígado.

MIL TRASPLANTES HEPÁTICOS EN EL HOSPITAL DE BELLVITGE. EVOLUCIÓN Y SITUACIÓN ACTUAL

L. Lladó, J. Fabregat, J. Castellote, E. Ramos, D. Julià, L. Secanella, J. Torras, C. Baliellas, C. Valls, T. Serrano, T. Casanovas, J. Figueras, X. Xiol y A. Rafecas

Unidad de Trasplante Hepático. IDIBELL. Hospital Universitari de Bellvitge.

Desde 1984 hasta 2007, se han realizado 1000 trasplantes hepáticos en el Hospital de Bellvitge. Analizamos la base de datos prospectiva

va, estudiando por períodos de 200 pacientes (5 grupos), la evolución quirúrgica y resultados. Mostramos los resultados cuantitativos en medianas y los cualitativos en porcentajes.

Resultados: Las principales indicaciones fueron hepatocarcinoma (292, 30%), cirrosis enólica (215, 22%) y cirrosis VHC (159, 16%). Se practicaron 106 trasplantes (11%). A lo largo de las etapas aumentó la edad de los donantes (GI: 27, GII: 48, GIII: 44, GIV: 49, GV: 59 años), así como el porcentaje de donantes fallecidos por AVC (GI: 21%, GII: 52%, GIII: 49%, GIV: 54%, GV: 54%).

No ha variado de forma significativa el tiempo quirúrgico, ni el tiempo de isquemia, pero sí ha disminuido la transfusión de CH. (GI: 16, GII: 10, GIII: 3, GIV: 2, GV: 0), la estancia en UCI (GI: 6, GII: 6, GIII: 4, GIV: 4, GV: 3 días), la estancia hospitalaria (GI: 26, GII: 23, GIII: 16, GIV: 12, GV: 11 días), las reintervenciones (GI: 21%, GII: 17%, GIII: 10%, GIV: 5,5%, GV: 6,6%) y la mortalidad hospitalaria (GI: 27%, GII: 14%, GIII: 9%, GIV: 4,5%, GV: 6%). El porcentaje global de complicaciones es del 60%, pero en estos períodos ha disminuido la disfunción primaria (GI: 6%, GII: 14%, GIII: 11%, GIV: 7,5%, GV: 4%), la tasa de rechazo (GI: 43%, GII: 29%, GIII: 16%, GIV: 17%, GV: 14%) y de complicaciones biliares (GI: 22,5%, GII: 28%, GIII: 19%, GIV: 13%, GV: 15%). La supervivencia actuarial global a 1, 5 y 10 años es del 79%, 64% y 49% respectivamente.

Conclusiones: La evolución técnica y de manejo peroperatorio, desde una óptica multidisciplinar, han permitido mejorar progresivamente los resultados del trasplante hepático hasta los resultados actuales.

ESTUDIO PROSPECTIVO DE LOS FACTORES ASOCIADOS AL DESARROLLO DE RECHAZO CRÓNICO EN PACIENTES CON HEPATITIS C RECURRENTE TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO TRATADOS CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA

I. Fernández^a, E. Ulloa^a, C. Jiménez^b, F. Colina^c, A. Gimeno^b, M. Abradelo^b, R. Muñoz^a, M.L. Manzano^a, G. Castellano^a, J.C. Meneu^b, E. Moreno^b y J.A. Solís-Herruzo^a

Servicios de ^aMedicina Aparato Digestivo, ^bCirugía General y Unidad de Trasplantes Abdominales y ^cAnatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

El tratamiento antiviral con interferón pegilado (IFN-PEG) y ribavirina puede inducir la aparición de rechazo crónico (RC) en pacientes con trasplante hepático y hepatitis C recurrente.

Objetivo: Investigar la incidencia, evolución y los factores asociados con la aparición de RC durante el tratamiento antiviral combinado con IFN-PEG y ribavirina de pacientes con hepatitis C recurrente.

Método: Se evaluaron de forma prospectiva 79 pacientes con hepatitis C recurrente tratados con IFN-PEG y ribavirina durante 48 semanas. Se realizó biopsia hepática en los dos meses previos a la terapia antiviral y durante el tratamiento ante el empeoramiento del perfil hepático. El diagnóstico de RC se efectuó de acuerdo a los criterios histológicos internacionalmente aceptados. Las variables incluidas en el análisis de los factores asociados al desarrollo de RC fueron la edad, el sexo, el nivel de transaminasas, de GGT, fosfatasa alcalina y bilirrubina, el antecedente de rechazo agudo, el tipo de inmunosupresión en el momento del RC, el tipo de IFN-PEG y si continuaban con ribavirina o no en el momento de desarrollar RC.

Resultados: Veintisiete pacientes (34%) consiguieron una respuesta viral sostenida. Siete (9%) de los 79 pacientes tratados desarrollaron rechazo crónico (RC) durante el tratamiento. El tiempo medio desde el inicio del tratamiento hasta la aparición de RC fue de 5,8 meses (3-12 meses). Seis pacientes presentaban ausencia de viremia en el momento del RC y el paciente restante eliminó la infección a los 3 meses de suspendido el tratamiento antiviral. Todos ellos consiguieron una respuesta viral sostenida. Tres pacientes fueron retransplantados, uno falleció por cirrosis y RC, dos mantienen ductopenia estable del 40% y los dos restantes mínima ductopenia, con perfil hepático normal. En el análisis de los factores asociados al desarrollo de RC observamos que recibir tratamiento con ciclosporina (6/7 pacientes que presentaron RC recibían ciclosporina y sólo

1/7 tacrólimus en el momento del RC, mientras que de los que no sufrieron RC, 13/72 se trataban con ciclosporina y 56/72 con tacrólimus, $P < 0,0001$), y la supresión del tratamiento con ribavirina (en 3/7 pacientes con RC vs 0/72 entre los que no sufrieron RC, $P < 0,0001$) resultaron asociarse de manera estadísticamente significativa con RC del injerto.

Conclusiones: La aparición de RC durante el tratamiento antiviral con IFN-PEG y ribavirina es poco frecuente pero puede ser grave, y parece asociada a la eliminación de la infección viral. Recibir tratamiento inmunosupresor con tacrólimus durante el tratamiento antiviral y mantener el tratamiento con ribavirina parecen disminuir el riesgo de aparición de esta complicación.

RESULTADOS DEL TRASPLANTE COMBINADO HEPATO-RENAL. COMPARACIÓN CON UN GRUPO DE TRASPLANTE HEPÁTICO AISLADO

I. Ferrer¹, J. Rivera², V. Aguilera^{1,4}, M. Berenguer^{1,4}, A. Rubin¹, J. Sánchez³, M. Prieto^{1,4} y J. Mir²

¹Servicio de Medicina Digestiva, ²Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático, ³Servicio de Nefrología, ⁴Ciberehd. Hospital Universitario La Fe, Valencia.

Introducción: El trasplante combinado hepatorenal (THR) es la alternativa terapéutica para los enfermos con enfermedad hepática y renal.

Objetivos: Analizar características basales y evolución del THR en comparación con un grupo de trasplante hepático aislado (TH).

Pacientes y métodos: Se analizaron los THR desde 01/98 hasta 12/06. Se compararon con un grupo control de TH emparejados por edad, sexo, fecha de TH e indicación. Se analizaron datos demográficos, del pre-TH (Diabetes (DM), HTA, diálisis pre-TH, hepatocarcinoma (HCC), Child), complicaciones del post-trasplante (re-intervenciones por sangrado, infecciones bacterianas 1^{er} mes, rechazo, DM e HTA) y supervivencia.

Resultados: Se realizaron 16 THR y se compararon con 32 TH. La mediana de edad fue: THR: 55 (15-67), TH: 54 (13-66). Hombres (81% THR, 78% TH). En los THR la indicación de TH fue: VHC: 4, VHB: 1, OH: 7, HCC: 2, otras: 2 y en el TH aislado fue: VHC: 12, VHB: 1, OH: 12, HCC: 3 y otras: 4. La indicación de TR fue glomerulonefritis en 9, nefropatía glomerular en 2, nefropatía diabética: 1, otras: 4. En el pre-trasplante, el 31% y el 28% de los THR y TH presentaban HCC. La DM fue: 31% en THR y 28% en TH ($p = 0,8$). La HTA fue: 50% en THR y 19% en TH ($p = 0,02$). Doce pacientes (69%) estaban en diálisis antes del THR y el resto tenían tasas de filtrado glomerular < 30 ml/hora. En el post-trasplante 3 (19%) y 5 (16%) del THR y TH tuvieron que ser reintervenidos por sangrado ($p = ns$) y las infecciones bacterianas en el 1^{er} mes ocurrieron en 9 (60%) y 16 (52%) ($p = 0,6$). Cinco pacientes (31%) de los THR requirieron diálisis post-trasplante frente a 1 (3%) ($p = 0,01$). La inmunosupresión (IS) de inducción en los THR fue: ciclosporina (cya) 25%, tacrolimus (tac) 75% y en los TH: cya: 62% y tac: 38% ($p = 0,03$). La inducción con micofenolato (MMF) fue mayor en los THR (87% frente a 6%, $p = 0,1$). La duración de prednisona fue mayor en los THR: (THR: 579 (246-1286), TH: 364 (32-2510), $p = 0,4$). La incidencia de rechazo hepático fue similar entre los grupos. Entre las complicaciones metabólicas al 1^{er} año la DM fue del 46% y 32% en THR y TH respectivamente ($p = 0,3$), la HTA al 1^{er} año fue de 39% y 43% en THR y TH ($p = 0,79$). De las complicaciones derivadas de la inmunosupresión: 3 pacientes en los THR (1 cardiopatía isquémica y 2 tumores *de novo*) y 5 en TH aislado (2 cardiopatía isquémica, 2 ACV y 1 tumor *de novo*). La mediana de creatinina en el THR al 1^{er} mes, 1^{er} y 3^{er} año fue: 1,2 (0,5-9,8), 1,1 (0,9-2,4) y 1,2 (0,9-2,2) respectivamente ($p = ns$). La mortalidad global fue: 3 (19%) y 5 (16%) en THR y TH respectivamente. La supervivencia al 1^{er} año fue: 90% en los TH y 80% en los THR, y al 3^{er} y 5^o año del 81% en ambos grupos ($p = ns$).

Conclusiones: El THR es una alternativa eficaz en pacientes con insuficiencia hepática y renal terminal. Las complicaciones precoces (reintervención e infecciones bacterianas) y tardías son similares en ambos grupos. La supervivencia del THR es similar a la del TH.

FACTORES DE RIESGO E INFLUENCIA CLÍNICA DE LA NEUROTOXICIDAD TEMPRANA ASOCIADA A ANTICALCINEURÍNICOS EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

D. Balderramo, J. Prieto, C. Fondevila y M. Navasa

Sección de Trasplante Hepático. Hospital Clínic de Barcelona. Universitat de Barcelona.

Introducción: La neurotoxicidad asociada a anticalcineurínicos se presenta en 20-40% de los pacientes que reciben un trasplante ortotópico de hígado (TOH). Se define como neurotoxicidad temprana asociada a anticalcineurínicos (NTAAC) a la que se presenta en las primeras 4 semanas del TOH. Los factores de riesgo y el impacto clínico de la NTAAC han sido evaluados parcialmente. Nuestro objetivo fue determinar los factores de riesgo de la NTAAC y su influencia en la evolución clínica del TOH.

Métodos: Se evaluaron retrospectivamente 103 pacientes receptores de TOH en el período 2004-2006. Se excluyeron los pacientes que fallecieron en las primeras 2 semanas del TOH (n = 5) y los pacientes que recibieron trasplante doble (n = 3). Se consideró NTAAC a los eventos neurológicos de moderada/severa gravedad que se presentaron en las primeras 4 semanas del TOH y que requirieron modificación de la inmunosupresión. Los eventos considerados fueron: coma, convulsión, psicosis, confusión, encefalopatía, déficit motores focales y depresión del estado de conciencia. Se realizó un análisis de las variables pretrasplante (edad, género, hepatopatía de base, MELD, retrasplante, encefalopatía e hiponatremia) y peritransplante (tipo de trasplante, tiempos de isquemia fría y de cirugía, reintervención, inmunosupresión, insuficiencia renal y niveles de sodio, magnesio y colesterol total). En el postrasplante se evaluó la incidencia de infecciones, rechazo agudo y mortalidad. Se realizó un análisis de riesgos proporcionales de Cox para identificar factores asociados a la NTAAC.

Resultados: Se evaluó a 95 pacientes, de los cuales 21 (22,1%) presentaron NTAAC y los 75 (77,9%) restantes formaron el grupo control. El tiempo medio de presentación de la NTAAC fue 7,6 días posteriores al TOH. En el análisis multivariado, la encefalopatía hepática previa al TOH (HR 4,44; IC95% 1,43-13,85) y el tiempo de cirugía mayor a 7 horas (HR 4,27; IC95% 1,4-12,98) se asociaron de forma independiente con la NTAAC. En el postrasplante, el grupo de NTAAC presentó mayor frecuencia de rechazo agudo (p = 0,039) e infecciones fúngicas (p = 0,02) y una tendencia a mayor frecuencia de infecciones bacterianas. Los pacientes con NTAAC presentaron mayor mortalidad que el grupo control (19% vs 5,4%), aunque no fue significativa. El shock séptico asociado a neumonía fue la principal causa de muerte en el grupo NTAAC.

Conclusiones: La encefalopatía previa al TOH y el tiempo de cirugía son los factores determinantes de la aparición de NTAAC. La NTAAC se asocia a una mayor incidencia de rechazo agudo del injerto e infecciones fúngicas, probablemente debido a la modificación de la inmunosupresión posterior a su presentación.

EL GENOTIPO VARIANTE DE LA LECTINA FIJADORA DE MANOSA (MBL) DEL DONANTE DEL INJERTO INFLUYE EN LA EVOLUCIÓN DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

D. Balderramo^a, C. Cervera^b, M. Pascual^c, J. Prieto^a, B. Suárez^c, F. Fuster^a, L. Linares^b, A. Moreno^b, F. Lozano^c y M. Navasa^a

Servicios de ^aHepatología, ^bEnfermedades Infecciosas e ^cInmunología. Hospital Clínic de Barcelona. Universitat de Barcelona.

Introducción: La lectina fijadora de manosa (MBL, *Mannose Binding Lectin*) es un componente principal de la inmunidad innata. Es una lectina sérica de tipo C de producción hepática que se fija a la superficie de múltiples patógenos (bacterias, virus, hongos y parásitos) y contribuye a su eliminación por opsonofagocitosis y/o lisis mediada por el complemento. Los niveles séricos de MBL están estrechamente correlacionados con polimorfismos del promotor y exón 1 del gen *MBL2*. Nuestro objetivo fue evaluar los genotipos de *MBL2* de donante y receptor de un injerto hepático y su influencia en las infecciones y evolución del trasplante hepático.

Métodos: En un período de 3 años (2004-2006) se determinaron mediante secuenciación los genotipos de *MBL2* de donante y receptor de los trasplantes hepáticos realizados en nuestra institución. Los genotipos se dividieron en silvestre (A/A) y variante (A/O; O/O). Además se analizaron variables pre y peritransplante, incidencia de infecciones bacterianas, fúngicas y por citomegalovirus, incidencia de rechazo, retrasplante y supervivencia postrasplante con objeto de identificar aquellas variables relacionadas con el desarrollo de infecciones y la supervivencia.

Resultados: Se incluyeron en el análisis 96 parejas consecutivas de donante-receptor de trasplante hepático. La frecuencia de genotipo silvestre en donantes y receptores fue del 62% y 52% respectivamente. No existieron diferencias significativas entre las características pre y peritransplante entre genotipo silvestre y variante tanto en los donantes como en los receptores. No existieron diferencias en la tasa de incidencia de infecciones bacterianas e infecciones totales respecto al genotipo del donante ni del receptor. Sin embargo, la mortalidad relacionada con infección fue significativamente superior en receptores de hígado de donante con genotipo variante de *MBL2* (50% vs 14%, p = 0,040). En el análisis multivariado, el genotipo variante de *MBL2* del donante (HR 7,75, IC95% 2,25-26,7), la puntuación MELD (HR 1,13, IC95% 1,05-1,22) y la infección bacteriana postrasplante (HR 11,0, IC95% 2,8-43,0) fueron factores predictivos independientes de mortalidad.

Conclusiones: El genotipo variante de *MBL2* del donante se asocia a una peor evolución del trasplante, en relación principalmente con una mayor gravedad en las infecciones postrasplante.

RETIRADA DE LA GAMMAGLOBULINA HIPERINMUNE CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) (GHI-VHB) DESPUÉS DE DOS AÑOS DE ADMINISTRACIÓN EN PACIENTES TRASPLANTADOS DE HÍGADO POR CIRROSIS (CI) - VHB: NUESTRA EXPERIENCIA CON 19 CASOS

P. Durán del Campo, A. Noblejas Mozo, I. Baños Pérez, M. Jiménez Garrido, V. Sánchez Turrión y V. Cuervas-Mons

Unidad de Trasplante Hepático. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: La infección por VHB es la causa del 5% de los trasplantes hepáticos en nuestro medio. Para prevenir la reinfección del injerto se administra inmunoprofilaxis con GHI-VHB (a dosis variables), asociada o no a antivirales. Se asume que la GHI-VHB debe administrarse indefinidamente, por el riesgo continuado de reinfección, aunque algunos estudios sugieren que es segura su interrupción en algunos pacientes.

Objetivo: Estudiar la seguridad de la supresión de la GHI-VHB, después de dos años de su administración ininterrumpida, en pacientes trasplantados de hígado por CI- VHB.

Pacientes y métodos: Pacientes trasplantados (enero 2001 -agosto 2005) en nuestro centro por CI- VHB, a los que se les administra profilaxis de reinfección con GHI-VHB (2000 UI intramusculares día x 7 días y luego 2000 UI mensuales durante dos años) ± análogo de nucleótidos/nucleósidos. Al completar 2 años de profilaxis con GHI-VHB, se suspende la GHI-VHB, se mantiene el análogo de nucleótidos/nucleósidos y se inicia vacunación anti-VHB (tres dosis de 40 mcg). Si la vacunación es efectiva (anti-HBs > 10 IU/L) se retira el análogo de nucleótidos/nucleósidos.

Resultados: 19 pacientes (16 varones, 3 mujeres, edad media 47,4 años) trasplantados por CI- VHB (5 con hepatocarcinoma y 5 con coinfección VHD). Antes del trasplante el ADN-VHB era indetectable en todos los pacientes (espontáneamente en seis y bajo tratamiento con análogo de nucleótidos/nucleósidos en los 13 pacientes restantes). El HBeAg era (+) en 3 pacientes. Todos los pacientes completaron con éxito 2 años de profilaxis con GHI-VHB, sola (n = 6) o asociada al mismo análogo de nucleótidos/nucleósidos que recibían pretrasplante (n = 13). Al suspender la profilaxis con GHI-VHB se inició vacunación en todos los pacientes, habiéndose completado (al menos un ciclo de vacunación, máximo 3 ciclos) en 13, y está en curso en los seis pacientes restantes. La vacuna anti-VHB fue efectiva en 5 (38,46%) de los 13 pacientes. En la última revisión

sión, después de seguimiento medio de 25 meses desde la suspensión de la GHI-VHB, ocho pacientes continúan con análogo de nucleótidos/nucleósidos y los 11 pacientes restantes no reciben ningún antiviral. El HBsAg y el ADN-VHB en sangre periférica permanecen indetectables, y la función del injerto es normal, en todos los pacientes.

Conclusión: Estos resultados preliminares sugieren que la GHI-VHB se puede suspender después de dos años de administración, sin riesgo de recidiva del VHB, en pacientes con ADN-VHB pre-trasplante indetectable. Se precisa seguimiento más prolongado para establecer la seguridad de esta política.

INFECCIÓN PRECOZ (3 PRIMEROS MESES) EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPÁTICO (TH): EVOLUCIÓN A LO LARGO DE 20 AÑOS EN NUESTRO CENTRO

M. Cuervas-Mons Cantón^a, J.I. Masa Gómez^a, J. Orduña Azcona^a, A. Noblejas Mozo^b, I. Baños Pérez^b, P. Durán del Campo^b, V. Sánchez Turrión^{a,b} y V. Cuervas-Mons Martínez^{a,b}
Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid^a. Unidad de Trasplante Hepático^b. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid.

La infección es la causa más frecuente de muerte precoz en los pacientes con TH. **Objetivo:** Estudiar la evolución durante 20 años de la incidencia y gravedad de la infección precoz (3 primeros meses) post-TH

Pacientes y métodos: Pacientes con primer TH desde el inicio de nuestro programa, agrupando a los pacientes en cuatro periodos de tiempo consecutivos. GI (1986-1991) (n = 121); G II (1992-1996) (n = 149); G III (1997-2002) (n = 183); G IV (2003-2006) (n = 99). La inmunosupresión y la profilaxis anti-infecciosa variaron a lo largo de los periodos.

Resultados: La incidencia de rechazo (87,6%, 68,6%, 43,9%, 36,4%), de reintervención quirúrgica (46,2%, 23,5%, 19,5%, 9,2%), y uso de diálisis (35,5%, 14,7%, 5,5%, 3%) (respectivamente en G I, II, III y IV), disminuyó significativamente a lo largo del tiempo. La incidencia de infección global (35,4% y 46,6%), bacteriana (28,3% y 28,1%) y vírica (4% y 17,1%) en los periodos IV y III, respectivamente, fue significativamente menor que en periodos anteriores (80,6%, 66% y 43,8%, respectivamente en GI y 73,1%, 51,8% y 35,6%, respectivamente en G II, todos p < 0,05). Por el contrario la incidencia de infección fúngica fue similar a lo largo del tiempo (28%, 12,6%, 7,1%, 11,1% respectivamente; en G I, II, III y IV; NS). La supervivencia del paciente aumentó significativamente a lo largo del tiempo (64,5% GI; 82% GII; p < 0,011 vs I; y 89,4% y 83,8% en G III y IV, p = 0,025 vs I y II). La infección fue la causa más frecuente de muerte en los cuatro periodos (46,4%, 64%, 47,6%, 37,5%, respectivamente, en G I, II, III y IV; NS), habiendo permanecido invariable la mortalidad por infección fúngica (18,5%, 22,1%, 14,2% 18,75%, respectivamente; en G I, II, III y IV; NS).

Conclusión: La mortalidad atribuida a infección, especialmente a infección fúngica, permanece inalterable a lo largo del tiempo, a pesar de la disminución progresiva de la incidencia global de infección precoz durante los últimos años.

ANÁLISIS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO POR HEPATOCARCINOMA SIGUIENDO LOS CRITERIOS DE MILAN Y LOS CRITERIOS DE SAN FRANCISCO SEGÚN LOS HALLAZGOS PREVIOS AL TRASPLANTE

A. Campillo, V. Bernal, C. Sostres, M.A. Simón, A. García-Gil, E. Tejero y M.T. Serrano
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

El hepatocarcinoma (HCC) es una indicación cada vez más frecuente de trasplante hepático (TH). La mayoría de los centros se basan en los criterios de Milan para incluir los pacientes en lista de espera, aunque trabajos recientes indican que podrían ser expandidos. Desde la Universidad de California, San Francisco se han propuesto unos criterios basados en los hallazgos anatomopatológicos que han

sido validados según el diagnóstico de imagen antes del trasplante. Nuestro objetivo es analizar la utilidad de ambos criterios aplicados en la evaluación pre-TH

Pacientes y métodos: Entre diciembre de 1998 y febrero de 2007 fue realizado el trasplante hepático por HCC en 45 pacientes (16,48%). Tras un análisis retrospectivo se agruparon según cumplieran los criterios de Milan o los de UCSF en el momento de su inclusión en lista de espera. Se analizó la tasa de recidiva y la supervivencia a los 3 y 5 años tras el TH mediante el método de Kaplan-Meier.

Resultados: Según la evaluación pre-TH 31 (68,9%) de los pacientes cumplían los criterios de Milan y 39 (86,7%) los de UCSF. Tras un seguimiento medio de 25 meses, se detectó recidiva en el 12,9% de los pacientes que cumplieron los criterios de Milan y en el 17,9% de los UCSF. La supervivencia libre de enfermedad, no varió significativamente entre ambos grupos. Fue del 74,45% y 63,03% en los pacientes que cumplían los criterios de Milan y del 68% y 57% respectivamente en los que seguían los criterios UCSF (p > 0,05).

Conclusión: El beneficio de expandir las indicaciones de TH en el hepatocarcinoma siguiendo los criterios UCSF es pequeño, pero no afecta en la supervivencia a medio y largo plazo.

TRASPLANTE HEPÁTICO POR VHC FRENTE A TRASPLANTE HEPÁTICO POR CIRROSIS MIXTA (VHC MÁS ALCOHOL): ¿DIFERENTE EVOLUCIÓN POSTRASPLANTE?

V. Aguilera^{1,2}, M. Berenguer^{1,2}, A. Rubin¹, P. López⁴, S. Benlloch^{1,2}, C. Ortiz^{2,3} y M. Prieto^{1,2}

¹Servicio de Medicina Digestiva. Hospital Universitario la Fe, Valencia, ²Ciberehd, ³Unidad de Inmunología Experimental, ⁴Hospital de Especialidades 25, IMSS, Monterrey, México.

Introducción: La combinación del alcohol con la infección crónica por el VHC condiciona una progresión más acelerada de la hepatopatía. En la cuarta parte de los pacientes que reciben un trasplante hepático (TH) por cirrosis-VHC existe antecedente de abuso enólico pre-TH. La evolución post-TH en los pacientes con cirrosis de etiología mixta (VHC+alcohol) es un hecho poco estudiado.

Objetivos: Analizar las características basales y la evolución clínica e histológica de tres grupos de pacientes (cirrosis-VHC, cirrosis-alcohol y cirrosis-mixta), así como las complicaciones metabólicas y aparición de tumores *de novo*.

Metodología: Comparación de tres grupos de pacientes trasplantados desde 1997 hasta 2001: cirrosis enólica (OH), cirrosis secundaria al VHC y cirrosis mixta. La afectación histológica se evaluó mediante biopsias de protocolo. Se consideró enfermedad histológica relevante cuando la fibrosis era > 1 al 1º año, desarrollaban hepatitis colestásica fibrosante, progresaban a cirrosis al 5º año o había necesidad de re-TH por recidiva VHC. Se utilizaron los tests chi-cuadrado, t de Student o tests no paramétricos cuando procedía. Se analizó la supervivencia con curvas de Kaplan-Meier (1º-3º-5º-7º año post-TH).

Resultados: De 494 TH, se analizaron 337 pacientes (cirrosis-VHC: 170, cirrosis-OH: 107, Cirrosis mixta: 60). Los pacientes del grupo mixto fueron significativamente más jóvenes en relación con los otros grupos y predominantemente varones. Los pacientes del grupo OH se trasplantaron en estadios de Child más avanzados. La pérdida del injerto fue mayor en los TH por VHC frente a los TH por alcohol (56% frente a 33%; p = 0,00) y frente al grupo de cirrosis mixta (56% en VHC, 42% en mixto, p = 0,06). Las complicaciones metabólicas fueron más prevalentes en el grupo de TH por cirrosis OH que en los TH por cirrosis por VHC (HTA: Alcohol: 61%, VHC: 44%, p = 0,01, DM: Alcohol: 38%, VHC: 25%, p = 0,04, dislipemia: Alcohol: 38%, VHC: 17%, p = 0,00), así como los tumores *de novo* post-TH (alcohol: 13%, VHC: 6%, p = 0,04). No hubo diferencias en la incidencia de enfermedad histológica relevante (VHC: 45%, mixta 45%, p = 0,9). Los pacientes con cirrosis mixta recibieron más tratamiento antiviral (VHC: 18%, mixta 32%, p = 0,03). La supervivencia de los pacientes fue significativamente menor en el grupo VHC al comparar con el grupo OH (p < 0,01) y el grupo mix-

to ($p = 0,004$): VHC: 1^{er} año: 72%, 7^o año: 43%, OH: 1^{er} año: 90%, 7^o año: 67%, Cirrosis mixta: 1^{er} año: 86%, 7^o año: 63%.

Conclusiones: La supervivencia post-TH es menor en el grupo de pacientes TH por VHC que en el grupo de pacientes con cirrosis mixta pese a una similar evolución histológica. La edad más joven en el momento del TH en el grupo mixto y recibir más tratamiento antiviral, pudiesen justificar esta mejor evolución frente al grupo VHC. La HTA, la DM, la dislipemia y los tumores de novo se desarrollan con mayor frecuencia en los TH por cirrosis alcohólica que en aquellos TH por cirrosis VHC.

Miscelánea

IMPACTO CLÍNICO DE LA MUTACIÓN JAK2V617F EN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO EN PACIENTES CON TROMBOSIS VENOSA ESPLÁCNICA

S. Raffa¹, J. J. Kiladjian², J.G. Abalde¹, A. F. Cervantes³, F. Leebeek⁴, C. Marzac⁵, B. Cassinat⁶, S. Chevet⁷, D. Cazals-Hatem⁸, A. Plessier⁹, S. Murad¹⁰, H. Janssen¹⁰, D. Valla⁹, S. Cereja², C. Conejer¹¹, N. Casadevall⁵, P. Fenaux², J. Bosch¹ y J.C. García-Pagán¹

¹Laboratorio de Hemodinámica Hepática, Hospital Clínic, IDIBAPS y Ciberehd. Barcelona, España. ²Servicio de Hematología, Hôpital Beaujon, Clichy, Francia. ³Departamento de Hematología, Hospital Clínic. Barcelona, España. ⁴Departamento de Hematología, Erasmus Medical Centre, Rotterdam, Holanda. ⁵Anatomía Patológica, Hospital Hotel-Dieu, Laboratorio de Hematología, Paris, Francia. ⁶Anatomía Patológica, Hospital Saint-Louis, Unidad de Biología Celular, Paris, Francia. ⁷Anatomía Patológica, Hospital Saint-Louis, DBIM, Paris, Francia. ⁸Anatomía Patológica, Hôpital Beaujon, Clichy, Francia. ⁹Servicio de Hepatología, Hôpital Beaujon, Clichy, Francia. ¹⁰Departamento de Gastroenterología y Hepatología, Erasmus Medical Centre, Rotterdam, Holanda. ¹¹Anatomía Patológica, Hospital Henri Mondor, Laboratorio de Hematología, Créteil, Francia.

Introducción: Los síndromes mieloproliferativos (SMP) representan la causa más frecuente de trombosis venosa esplácnica incluyendo el Síndrome de Budd-Chiari (SBC) y la trombosis venosa portal (TP). En estos pacientes, el diagnóstico de SMP siguiendo los criterios hematológicos clásicos se ve dificultado por los cambios secundarios a la hipertensión portal. Recientemente se ha identificado la mutación JAK2V617F en un 90% y un 50% de pacientes con Policitemia Vera y trombocitemia esencial (TE) respectivamente y se ha sugerido que podría ser un nuevo marcador molecular de SMP.

Objetivos: Evaluar el valor diagnóstico y pronóstico de la mutación JAK2V617F en pacientes con trombosis venosa esplácnica.

Métodos: Se estudiaron 241 pacientes con trombosis venosa esplácnica provenientes de 3 centros Europeos, 104 con SBC y 137 con TP. Todas las biopsias de medula ósea (BMO) fueron revisadas por un hematólogo experto. La mutación JAK2V617F se determinó de forma prospectiva en DNA obtenido de muestras de sangre total mediante la técnica de Real time PCR. En 101 pacientes se evaluó la formación endógena de colonias eritroides (ECE).

Resultados: La mutación JAK2V617F se encontró en el 45% y 34% de pacientes con SBC y TP respectivamente. Un 96.5% de los pacientes en los que la BMO y la ECE sugerían SMP la mutación JAK2V617F fue positiva. La mutación se halló en un 58% de pacientes en los que los resultados de BMO y ECC eran discordantes y en un 7% cuando ambas pruebas eran negativas para SMP. Como consecuencia, la información aportada por la mutación JAK2V617F permitió incrementar la tasa diagnóstica de SMP desde un 31 a un 44%. Por otra parte, la mutación JAK2V617F fue negativa en un 13,9% de pacientes con BMO característica de SMP mayoritariamente pacientes con TE y mielofibrosis.

Los pacientes con SBC, JAK2V617F positivo ($n = 47$), presentaban basalmente mayor grado de insuficiencia hepática y mayor requeri-

miento de técnicas derivativas pero ello no ocasionó ningún impacto en la supervivencia. El perfil de los pacientes con TP era, no obstante, semejante en los pacientes con o sin SMP.

Conclusión: Nuestros resultados sugieren que en los pacientes portadores de trombosis venosa esplácnica, la determinación de la mutación JAK2V617F debe ser la primera prueba diagnóstica para el estudio del SMP. Sólo en casos negativos debería realizarse BMO. A su vez, los pacientes con SBC asociado a SMP presentan una enfermedad hepática de mayor gravedad pero que, debido a la aplicación de tratamientos derivativos, no se asocia a un peor pronóstico. *Financiado en parte por V programa marco (QLG1-CT-2002-01686) y la Fundación para el estudio de las enfermedades del hígado.*

HISTORIA NATURAL DE LA HEPATOPATÍA TÓXICA IDIOSINCRÁSICA EN UNA COHORTE IDENTIFICADA EN UN HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

B. García-Muñoz^a, S. López-Ortega^a, Y. Borraz, A. Fernández Castañer^a, M.C. López-Vega^a, M. Robles^a, N. Ortiz^a, I. Cueto^a, M.I. Lucena^b y R.J. Andrade^a

Unidad de Hepatología, Servicio de Aparato Digestivo^a. Servicio de Farmacología Clínica^b. Hospital Universitario "Virgen de la Victoria". Facultad de Medicina. Málaga.

Introducción: Datos recientes sugieren que entre un 6% a un 33% de los pacientes podrían evolucionar a la cronicidad. Objetivos: analizar la historia natural de la hepatotoxicidad idiosincrásica, identificar los factores relacionados con la persistencia y definir la duración del seguimiento a largo plazo más costo-efectiva.

Material y métodos: Se incluyeron los pacientes diagnosticados de hepatotoxicidad idiosincrásica entre 1994 y 2006 identificados en un mismo centro a través del Registro Español de Hepatotoxicidad y con causalidad según escala de CIOMS probable o definida que no cumplieren criterios de exclusión.

Resultados: Se incluyeron 78 de 133 pacientes (edad media 51 años, 53% mujeres) con un seguimiento promedio de 34 meses. El patrón de lesión predominante fue el hepatocelular (41%). Hubo 7 éxitos no relacionados con la hepatotoxicidad. 12 pacientes (15,4%) evolucionaron a cronicidad predominando el patrón colestático/mixto (20%; $p < 0,05$), aunque con mayor gravedad en el hepatocelular. El daño crónico se caracterizó por ser más frecuente en el sexo femenino, de menor edad y con un menor peso corporal. La ictericia al ingreso fue menos frecuente en los casos crónicos, y el rash más frecuente. La duración del tratamiento fue mayor en los pacientes crónicos. Al final del periodo de seguimiento 8 crónicos presentaban persistencia de la lesión. Los grupos farmacológicos más frecuentemente implicados fueron los hipolipemiantes (33%), y los del sistema nervioso central (25%).

Conclusiones: La evolución a la cronicidad en la hepatotoxicidad idiosincrásica no es excepcional. El patrón colestático/mixto es más proclive aunque la lesión hepatocelular es de mayor gravedad. Los factores de riesgo son el sexo femenino, menor peso corporal, y presencia de rash cutáneo. Los grupos terapéuticos los hipolipemiantes y los ansiolíticos.

PREVALENCIA DE FRACTURAS EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA. RELACIÓN CON LA OSTEOPOROSIS Y EL GRADO DE INSUFICIENCIA HEPÁTICA

A. Parés, D. Cerdá, A. Monegal, F. Pons, L. Caballería, P. Peris y N. Guañabens

Unidades de Hepatología y de Patología Metabólica Osea, Ciberehd, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona.

La osteoporosis es una de las complicaciones frecuentes en los pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP), y se relaciona con el grado de insuficiencia hepática. La presencia de fracturas es una de las consecuencias de la osteoporosis, y representa un factor de comorbilidad en esta enfermedad. La prevalencia de fracturas en la CBP es poco conocida, básicamente porque los datos reportados se han obtenido en series con un número reducido de pacientes.

Objetivo: Analizar la prevalencia de fracturas y la asociación con las alteraciones de la densidad mineral ósea y la intensidad de la insuficiencia hepática en la CBP.

Pacientes: Se han estudiado 185 mujeres con CBP (edad: $55,7 \pm 0,7$ años, intervalo: 28-79, con una promedio de duración de la enfermedad antes de la evaluación ósea de $3,2 \pm 0,3$ años (intervalo: 0-19,5 años).

Métodos: Además de las variables demográficas y de las pruebas rutinarias de función hepatocelular se evaluó el estado posmenopáusico, la presencia de fracturas vertebrales mediante radiografía (170 pacientes) y de fracturas periféricas (172 pacientes). En 180 pacientes se disponía de DMO lumbar y en 140 de DMO de cuello de fémur.

Resultados: La prevalencia de fracturas vertebrales, periféricas y totales fue del 11,2%, 12,2% y 20,8%, respectivamente. Según criterios densitométricos el 30,6% de los pacientes tenía osteoporosis lumbar y el 12,9% osteoporosis femoral, tasas significativamente superiores a las observadas en la población estándar de mujeres españolas, que es del 11,2% y 4,3%, respectivamente ($p < 0,001$). La presencia de fracturas se relacionó con la osteoporosis lumbar y femoral, con el estado posmenopáusico, con la edad y con la talla, al igual que la presencia de fracturas vertebrales. No se observó relación entre la presencia de fracturas y el grado de insuficiencia hepática. Sin embargo, la existencia de osteoporosis se relacionó con la edad, el peso, la talla, la duración de la enfermedad, el estadio histológico y la magnitud de la colestasis. La presencia de osteoporosis comportó un factor de riesgo para fractura vertebral de 8,48 (95% IC: 2,67-26,95), y este factor de riesgo fue ya muy elevado en los pacientes con osteopenia lumbar con escala-T $< -1,5$ (8,50; 95% IC 1,89-38,09) y osteopenia femoral con escala-T $< -1,5$ (6,83; 95% IC: 1,48-31,63). Así, 17 de los 19 pacientes (89,5%) con fractura vertebral tenían una escala-T lumbar $< -1,5$ y 15 de ellos (86,7%) tenían una escala-T en cuello femoral $< -1,5$.

Conclusiones: En la CBP, las fracturas, particularmente las vertebrales, se relacionan con la presencia de osteoporosis y con una escala-T lumbar y/o femoral $< -1,5$, mientras que la existencia de osteoporosis y osteopenia de relaciona con la intensidad de la colestasis. La concordancia entre la fractura vertebral y la escala-T $< -1,5$ permite seleccionar a los pacientes que deberían recibir tratamientos específicos para aumentar la masa ósea.

ANÁLISIS PROTEÓMICO DEL PLASMA DE PACIENTES CON COLESTASIS CRÓNICA Y PRURITO. EFECTO DE LA DIÁLISIS CON ALBÚMINA

R. Quesada, A. Parés, M. Gay, M. Carrascal, R. Deulofeu, A. Mas y J. Abián

Unidad de Hepatología, Ciberehd, Hospital Clinic, IDIBAPS, Barcelona, y Laboratorio de Proteómica CSIC/UAB, IIBB-CSIC, Universidad Autónoma de Barcelona.

El prurito es un síntoma frecuente en los pacientes con colestasis crónica. Su patogenia es desconocida, y recientemente se ha demostrado que la diálisis con albúmina, mediante la aplicación del sistema MARS, mejora de forma significativa el prurito. Con el fin de conocer potenciales moléculas relacionadas con el prurito de la colestasis se ha efectuado un análisis proteómico del plasma de 6 pacientes con una enfermedad colestásica crónica y prurito antes y después del tratamiento con MARS (4 pacientes con cirrosis biliar primaria, 1 paciente con colangitis esclerosante primaria y un paciente con enfermedad de Alagille). Como grupo control se ha utilizado un grupo de pacientes tratados con MARS con hepatitis alcohólica grave sin prurito (4 pacientes), y el plasma de sujetos controles.

Las muestras de plasma se trataron mediante columnas de afinidad para eliminar siete de las familias de proteínas séricas más abundantes, incluyendo albúmina e inmunoglobulinas. Seguidamente se llevó a cabo un análisis de expresión diferencial mediante electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida y tinción con plata. Las manchas de interés se recortaron del gel y se digirieron con tripsina para su análisis mediante mapeo peptídico en un espectrómetro de masas MALDI-TOF.

Resultados: En el análisis diferencial antes del tratamiento entre los pacientes con colestasis y hepatitis alcohólica se hallaron 8 manchas que correspondieron al precursor de la glutatión peroxidasa, 6 manchas de apolipoproteína A y E, y otra mancha del precursor de la globulina transportadora de hormonas sexuales. La apolipoproteína estuvo 3 veces más elevada en los pacientes con prurito que en los controles con hepatitis alcohólica y 1,5 más que en los controles sanos. En el análisis del plasma de los pacientes con prurito antes y después de la diálisis con albúmina se evaluaron los cambios de 979 manchas en los geles, de las cuales 5 mostraron cambios significativos. Las proteínas diferenciales fueron identificadas como el precursor del componente P-amiloide (25.4 kDa), el precursor de haptoglobina (45.2 kDa), el precursor del factor 1 del complemento (65.7 kDa) y dos manchas correspondientes al precursor de apolipoproteína A1 (30.8 kDa).

Conclusiones: Los resultados de este estudio indican que en los pacientes con colestasis crónica y prurito hay un notable aumento de apolipoproteínas, y que la diálisis con albúmina se asocia con una disminución de los niveles circulantes de cinco proteínas que podrían estar relacionadas con la patogenia del prurito de la colestasis.

EL GRADO DE INFILTRACIÓN DE POLIMORFONUCLEARES TIENE VALOR PRONÓSTICO EN LA HEPATITIS ALCOHÓLICA: IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS

M. Domínguez^a, J. Colmenero^a, R. Miquel^b, M. Moreno^a, J.C. García-Pagán^a, V. Arroyo^a, J. Caballería^a, P. Ginès^a y R. Bataller^a

^aUnidad de Hepatología, Institut Clínic Malalties Digestives i Metabòliques y ^bUnidad de Patología, Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD) y Centro de Investigación Biomédica Esther Koplowitz (CIBEK), Barcelona.

Introducción y objetivo: La hepatitis alcohólica (HA) es una complicación frecuente de los pacientes alcohólicos, asociándose a un mal pronóstico. El tratamiento de las formas graves de la HA no es efectivo en muchos pacientes. Por tanto, es necesario conocer mejor la patogenia para desarrollar nuevos tratamientos. Recientemente hemos demostrado que Gro- α , una citoquina que recluta células polimorfonucleares de la familia de la interleucina 8 (IL-8), participa en la patogenia de la HA severa. Se desconoce, sin embargo, si la infiltración por polimorfonucleares juega un papel patogénico en la HA. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de parámetros histológicos (grado de infiltración de linfocitos y polimorfonucleares, apoptosis celular y expresión hepática de IL-8) sobre la severidad y la supervivencia de pacientes con HA.

Métodos: Se incluyó 93 pacientes con criterios clínicos, analíticos e histológicos de HA, prospectivamente ingresados en la Unidad de Hepatología del Hospital Clínic de Barcelona durante el periodo 2000-2006. Las muestras de tejido hepático fueron teñidas con Hematoxilina & eosina y tricómico de Masson. Se realizó inmunohistoquímica hepática para IL-8, CD3 (linfocitos), CD15 (polimorfonucleares) y células TUNEL (apoptosis). Se cuantificó el número de células positivas por campo mediante un sistema computarizado acoplado al microscopio. Se correlacionó dichos parámetros con la supervivencia a 90 días y con la severidad de la enfermedad (Índice de Maddrey). Se utilizó el modelo de regresión de Cox para el análisis estadístico.

Resultados: En el análisis univariado, el grado de infiltración por células polimorfonucleares (CD15 positivas), la apoptosis de células inflamatorias y hepatocitos, la presencia de colestasis y el porcentaje de esteatosis en la biopsia hepática se asoció con una mayor mortalidad a los 90 días. En el análisis multivariado, los parámetros predictores independientes de mortalidad a los 90 días fueron el infiltrado de células polimorfonucleares ($p = 0,009$) y, en menor grado, la presencia de colestasis ($p = 0,048$). El infiltrado de células polimorfonucleares se asoció independientemente con la severidad de la enfermedad, según el Índice de Maddrey.

Conclusiones: La infiltración hepática de células polimorfonucleares se asocia a una mayor severidad y a mortalidad a corto plazo en pacientes con HA. Estos resultados confirman observaciones previas que indican que las citoquinas implicadas en la infiltración por células polimorfonucleares son una posible diana terapéutica para el tratamiento de la HA.

PRESENTACIÓN, CURSO Y PRONÓSTICO DE LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA EN ESPAÑA. CAMBIOS DURANTE UN PERÍODO DE 35 AÑOS

Grupo Español de Enfermedades Colestásicas de la AEEH

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Ciberehd, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona.

Introducción y objetivos: La cirrosis biliar primaria (CBP) es una enfermedad colestásica crónica poco frecuente. Los datos disponibles sobre su presentación, curso y pronóstico se basan, generalmente, en series recogidas hace años. Existen evidencias de que la presentación e historia natural de la enfermedad puede haber cambiado en los últimos años. Por este motivo el presente estudio analiza una cohorte de pacientes con CBP diagnosticados desde 1970 hasta julio de 2006 en 16 hospitales españoles.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 1094 pacientes (962 mujeres con una edad media de 53.1 ± 0.4 años) diagnosticadas de CBP. Se han recogido las manifestaciones clínicas, analíticas y el estadio histológico en el momento del diagnóstico y la incidencia de alteraciones de progresión de la enfermedad como ictericia, ascitis, hemorragia varicial y encefalopatía hepática. Asimismo se ha evaluado si los pacientes fallecieron o fueron trasplantados. Para evaluar las diferencias en el curso de los años, el conjunto de la serie se ha dividi-

do en 7 grupos de acuerdo con la fecha del diagnóstico, que comprenden periodos de aproximadamente 5 años.

Resultados: Las características clínicas, bioquímicas e histológicas en el momento del diagnóstico fueron claramente distintas en los diversos periodos de inclusión. Así, los pacientes fueron tuvieron una edad media más elevada desde el primer al último periodo del estudio. No se observaron diferencias en el género. El prurito, la melanonodermia, la ictericia, la ascitis y la encefalopatía hepática fueron significativamente menos frecuentes en el momento del diagnóstico en los pacientes diagnosticados en los últimos 15 años que en aquellos diagnosticados antes de 1990 ($p < 0,001$). El estadio histológico diagnóstico fue menos avanzado en los últimos 20 años y particularmente en los tres últimos quinquenios ($p < 0,001$). Además, la incidencia de manifestaciones de progresión de la enfermedad disminuyó de forma progresiva desde el primer al último quinquenio de estudio. 122 pacientes (11,9%) fallecieron y 64 (6,2%) recibieron un trasplante hepático. Existieron diferencias significativas en la probabilidad de supervivencia libre de trasplante entre los grupos, que se alargó de forma significativa, desde el 50% al 91% a los 10 años entre el primer y el último quinquenio de estudio. La mayoría de pacientes diagnosticados en los últimos 20 años fueron tratados con ácido ursodesoxicólico.

Conclusiones: La presentación, incidencia de manifestaciones de progresión de la enfermedad, curso y pronóstico ha cambiado notablemente en los últimos años, pasando de ser una enfermedad muy sintomática, y con una elevada incidencia de complicaciones a tener una presentación poco sintomática y menos grave. La supervivencia libre de trasplante también ha mejorado, probablemente relacionada con la menor gravedad inicial y por el efecto del tratamiento con ácido ursodesoxicólico.