

PÓSTERS

XXXV Congreso Anual de la Fundación/Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 17-19 de febrero de 2010

Moderadores: Matías Ávila (Pamplona) y Juan C. García-Pagán (Barcelona)

P-1. NUEVA DIANA TERAPÉUTICA EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR: COMPLEJO 2 DE MTOR

H. Cornellá^a, A. Villanueva^a, V. Tovar^a, Y. Hoshida^b, C. Alsinet^a, D. Sia^a, J. Peix^a, D.Y. Chiang^b, B. Mínguez^c, S. Toffanin^c, R. Savic^c, A. Lachenmayer^c, S. Thung^c, S. Roayaie^c, M. Schwartz^c, J. Bruix^a, V. Mazzaferro^d, S.L. Friedman^c y J.M. Llovet^{a,c}

^aLaboratori de Recerca Translacional en Oncología Hepática. BCLC. IDIBAPS. CIBERehd. Hospital Clínic. Barcelona. España.

^bMount Sinai. New York. EE.UU.

^cBroad Institute of Harvard and MIT. Boston. EE.UU.

^dIstituto Nazionale dei Tumori. Milán. Italia.

Introducción: Estudios recientes demuestran la activación de la vía mTOR en el carcinoma hepatocelular (CHC) (Villanueva, Gastroenterology 2008). Aun así, se desconoce el rol oncogénico del complejo 2 de esta vía (MTORC2) y su posible papel como diana terapéutica.

Objetivos: Investigar (1) el papel oncogénico de MTORC2 en el CHC y (2) el impacto in vitro de la inhibición selectiva de RICTOR, componente del complejo.

Métodos: Se estudiaron 102 muestras de tejido fresco de CHC determinando las alteraciones en el número de copias de DNA (Affymetrix 238K array) y en la expresión génica (Affymetrix U133 Plus 2.0 y qRT-PCR-Taqman). Los resultados se validaron en una cohorte independiente de 164 muestras parafinadas de CHC (DASL-Illumina). Para estudiar la inhibición selectiva de RICTOR se transfecaron células de CHC humano, Huh7, con siRNA-RICTOR y se evaluó su efecto en la viabilidad (MTT), proliferación (Timidina[H3]) y ciclo celular (FACS). Asimismo, se analizaron diferentes vías de señalización por Western blot (p-AKT, p-RPS6 y p-ERK), y el impacto de inhibir RICTOR en la expresión génica (Affymetrix U133). En el análisis estadístico se emplearon curvas Kaplan-Meier (log-rank) y modelos de Cox, mientras que las correlaciones genómicas se estudiaron mediante GSEA.

Resultados: El 25% (25/102) de las muestras tienen ganancias en el locus de RICTOR, y en 9 (9/102) existe aumento en su expresión ($p = 0,01$). Estos pacientes presentan mayor tasa de recurrencia tumoral en la cohorte inicial ($p < 0,001$) y en la de validación (9%, 14/163; $p = 0,005$). In vitro, a 48h de transfección con siRNA-

RICTOR, la viabilidad celular tumoral disminuye un 20% ($p = 0,04$) y la proliferación un 30% ($p = 0,03$). Se induce un moderado arresto del ciclo celular en G1 ($p = 0,005$). La infraexpresión de RICTOR reduce la fosforilación de AKT sin afectar la activación de MTORC1 (p-RPS6). GSEA muestra en Huh7-siRNA-control enriquecimiento significativo en 83 gene sets (FDR < 0,05), algunos relacionados con vías oncogénicas (ej. RAS, MYC), mientras que la inhibición de RICTOR (Huh7-siRNA-RICTOR) consigue neutralizar la expresión de 79 gene sets, algunos pro-oncogénicos, restando 4 activados (FDR < 0,05) pero sin perfil oncogénico (ej. TNFA).

Conclusiones: MTORC2 está activado en un 10% de los pacientes con CHC y se asocia a riesgo de recurrencia. El bloqueo selectivo de RICTOR (MTORC2) tiene efecto antitumoral en un modelo celular de CHC. Su confirmación como nuevo oncogén está en evaluación en animales transgénicos.

P-3. ACTIVACIÓN DEL PROMOTOR DE LA PROTEÍNA ASOCIADA A LA RESISTENCIA A MÚLTIPLES FÁRMACOS MRP2 EN TUMORES DEL CIRCUITO ENTEROHEPÁTICO

E. González-Sánchez^a, O. Briza^{a,b}, E. Herráez^a, M.A. Serrano^a, M.R. Romero^a, R. Pizarro^a y J.J.G. Marín^a

^aLaboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos (HEVEFARM). Universidad de Salamanca. CIBERehd. Salamanca. España.

^bUnidad de Investigación. Hospital Universitario de Salamanca. España.

Introducción: Las bombas exportadoras ABC (ATP-binding cassette) reducen la concentración intracelular de sustancias endógenas en condiciones fisiológicas y de fármacos en las células tumorales. La proteína asociada a la resistencia a múltiples fármacos MRP2 (gen ABCC2) localizada en la membrana canalicular de los hepatocitos juega un papel determinante en la secreción biliar de bilirrubina. En tumores puede causar resistencia a fármacos como el cisplatino. El objetivo de este trabajo fue investigar los mecanismos de activación del promotor de MRP2 (pMRP2) en células derivadas de tumores enterohepáticos.

Métodos: y resultados: Se determinó por RT-PCR cuantitativa y Western-blot la expresión de MRP2. Esta proteína se encontró muy expresada en células derivadas de hepatoblastoma (HepG2), hepatocarcinoma (SK-Hep1), colangiocarcinoma (CHL) y adenocarcinoma de colon (Caco-2 y LS174T). La exposición de estas células a cisplatino aumentó la expresión de MRP2. El tratamiento prolongado de células LS174T con concentraciones crecientes de cisplatino y doble selección clonal permitió obtener una sublínea parcialmente quimiorresistente (LS174T/R), que presentaba una marcada sobreexpresión de MRP2. El promotor de MRP2 completo o parcial se clonó en plásmidos que contenían la ORF de GFP o de luciferasa, para medir la activación del promotor mediante cambios de fluorescencia de GFP por citometría de flujo, o de actividad de luciferasa, por luminometría. La transfección de estos plásmidos permitió observar la activación directa por parte del cisplatino de forma dependiente de la región de pMRP2 conservada. Además, aún en ausencia de cisplatino la activación del promotor era marcadamente superior en células quimiorresistentes que en las controles. El análisis de la expresión de factores de transcripción que podrían interaccionar con pMRP2 no reveló diferencias en los niveles de ARNm de p53, c-Myc, AP1, YB1, NFR2, RXR y SXR. Sin embargo, la expresión estaba elevada (4 a 6 veces) para c/EBPb, HNF1a, HNF3b y HNF4a, y era especialmente alta (237 veces) en el caso de FXR. La expresión de SHP, un gen diana de FXR, también estaba aumentada (30 veces) en las células quimiorresistentes.

Conclusiones: La exposición de células derivadas de tumores enterohepáticos a fármacos citostáticos como el cisplatino induce la expresión de MRP2, tanto por activación directa del promotor como por un mecanismo indirecto mediado por factores de transcripción, entre los que se encuentra el tandem FXR-SHP.

P-4. TRATAMIENTO DE METÁSTASIS HEPÁTICAS DE CARCINOMA DE PÁNCREAS CON UN ADENOVIRUS ONCOLÍTICO REGULADO POR HIPOXIA QUE EXPRESA LA CITOCINA INMUNOESTIMULADORA INTERLEUCINA-12

S. Bortolanza, M. Buñales, E. García-Aragón, J. Prieto y R. Hernández-Alcoceba

Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: El cáncer de páncreas presenta una marcada tendencia a metastatizar en el hígado. En esta fase, la enfermedad es letal y los tratamientos convencionales no son efectivos. Entre las nuevas opciones terapéuticas que se investigan en la actualidad se encuentran: (i) los adenovirus oncolíticos (o de replicación condicionada, CRAd), que consiguen una replicación y destrucción selectiva de las células tumorales y (ii) la inmunoterapia basada en la transferencia génica de citoquinas inmunoestimuladoras como interleuquina-12 (IL-12), con el objetivo de activar el reconocimiento y la destrucción de las células tumorales por medio del sistema inmune del paciente.

Métodos: En el presente proyecto hemos combinado ambas estrategias terapéuticas mediante el uso de un adenovirus oncolítico que expresa IL-12 (Ad-DHsCL12). La selectividad de la replicación viral se obtiene mediante la utilización de promotores dependientes de hipoxia y de proliferación celular para el control de la expresión de proteínas virales. De modo complementario se han delecionado funciones específicas del virus que son indispensables para la replicación viral solo en células normales, pero no en el tumor. La secuencia codificante para genes reporteros (luciferasa) o terapéuticos (IL-12) se insertó en una región del genoma viral para asegurar un incremento simultáneo de la replicación y la expresión en el microambiente tumoral. Para evaluar la eficacia de este tratamiento se ha utilizado un modelo de metástasis hepáticas en hámsters sirios, que son inmunocompetentes y permisivos para la replicación de adenovirus.

Resultados: Los adenovirus replicativos consiguen una destrucción selectiva de las células tumorales en ambientes hipóticos, y una amplificación de la expresión de transgenes respecto a los virus defectivos in vivo. La administración local de Ad-DHsCL12 consigue una alta expresión de IL-12, preferentemente en los tumores hepáticos. Este tratamiento logra una significativa reducción del tamaño tumoral, con remisiones completas en el 50% de los animales. Este efecto es superior al observado con adenovirus defectivos que expresan IL-12, mientras que los virus replicativos carentes de genes terapéuticos no muestran ningún efecto.

Conclusiones: La expresión de IL-12 mediante adenovirus replicativos es efectiva para el tratamiento de metástasis hepáticas de cáncer de páncreas en un modelo animal, y no incrementa la toxicidad frente a los adenovirus defectivos convencionales gracias al control simultáneo de la replicación y la expresión del transgén.

P-5. APARICIÓN DE EVENTOS CARDIOVASCULARES TRAS TRATAMIENTO A LARGO PLAZO CON SORAFENIB EN PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR AVANZADO (CHC)

M. Reig^a, A. Forner^a, C. Rodríguez de Lope^a, J. Rimola^b, S. Tremosini^a, C. Ayuso^b, C.A. Mestres^c, J.M. Llovet^a y J. Bruix^a

^aBCLC. Unidad de Hepatología.

^bBCLC. Unidad de Radiología.

^cServicio de Cirugía Cardiovascular. Hospital Clínic. Barcelona.

IDIBAPS. CIBEREHD. Barcelona. España.

Introducción: Sorafenib mejora la supervivencia de los pacientes (pts) con CHC. Aunque la seguridad y la tolerancia del sorafenib en el ensayo SHARP fue aceptable, existe escasa información sobre la aparición de eventos adversos cardiovasculares (EAC) a largo plazo en su uso clínico habitual.

Objetivo: Determinar el perfil de seguridad cardiovascular de los pts con CHC avanzado tratados con sorafenib.

Métodos: Desde octubre de 2007 a septiembre de 2009 se registró en forma prospectiva la tolerancia de los pts con CHC en tratamiento con sorafenib. Se incluyeron pts con cirrosis compensada (Child-Pugh A y B-7 puntos) y excluyó aquellos pacientes con hipertensión arterial (HTA) no controlada y/o enfermedad arterial inestable. La evaluación clínica y de laboratorio se realizó al inicio y cada 1 mes. Sorafenib se mantuvo hasta aparición de efectos adversos severos o progresión sintomática.

Resultados: Durante el período de estudio 91 pts iniciaron tratamiento con sorafenib. La edad media fue 66 años, 81% hombres, VHC pos en 61%, Child-Pugh A en 83,5%; 59% presentaban al inicio un CHC BCLC B y 41% BCLC C. Al inicio, 33 pts (36%) eran hipertensos (HTA) y 23 (21%) diabéticos. La mediana de duración del tratamiento en toda la cohorte fue 5,6 meses (0-24). Durante ese período se registraron 481 eventos adversos. Cuarenta de ellos fueron EAC que afectaron a 31 pts. Se dividió los CAE en HTA (26 eventos), eventos isquémicos o trombóticos (IT) (10 eventos) y alteración del ritmo cardíaco (AR) (4 eventos). El tiempo medio de aparición de la HTA fue 23 días (1-484), IT 290 días (37-607) y AR 93,5 (29-530). No hubo muertes asociadas con EAC: 85,3% eran CTCAE de grado I/II, 8,8% III y 5,9% IV. La presión arterial diastólica (PAD) y el hematocrito basal fueron los únicos parámetros significativamente diferente ($p = 0,01$ y $p = 0,04$) entre aquellos que desarrollaron o no EAC. La mediana de tratamiento de los pts que desarrollaron EAC fue 9,39 meses [0-24], significativamente mayor ($p = 0,016$) que los que no lo desarrollan 3,94 meses [0-23].

Conclusiones: Más del 80% de los EAC asociados a sorafenib fueron leves, pero el tipo y gravedad difieren en el tiempo. Por lo tanto, los pts deben ser cuidadosamente seleccionados y valorados antes de iniciar el tratamiento para prevenir EAC en forma precoz. La isquemia y la trombosis surgen después de la administración a

largo plazo y, tienen que ser controlados intencionalmente para permitir la detección temprana y manejo.

P-6. PROLIFERATIVE ROLE OF LKB1 IN THE DEVELOPMENT OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA ASSOCIATED TO NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

J.L. García-Rodríguez^a, N. Martínez-López^a, M. Varela-Rey^a, D. Fernández-Ramos^a, M. Vázquez-Chantada^a, N. Embade^a, A. Woodhoo^a, L. Espinosa-Hevia^a, F.J. Bustamante^b, L.A. Parada^a, M.S. Rodríguez^a, S.C. Lu^c, J.M. Mato^a y M.L. Martínez-Chantar^a

^aCIC biogUNE. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberedh). Technology Park of Bizkaia. Derio. Bizkaia. España.

^bHospital de Cruces. University of Basque Country. Bizkaia. España.

^cDivision of Gastrointestinal and Liver Diseases. USC Research Center for Liver Diseases. Southern California Research Center for Alcoholic Liver and Pancreatic Diseases and Cirrhosis.

Keck School of Medicine. University of Southern California. Los Angeles. EE.UU.

Introduction: LKB1 plays an important role in hepatocyte proliferation and liver regeneration in an S-adenosylmethionine (SAMe) dependent manner. Mice lacking methionine adenosyltransferase 1A (MAT1A) show a chronic deficiency in SAMe levels and developed spontaneously non alcoholic steatohepatitis (NASH) and hepatocellular carcinoma (HCC), resembling the human pathology. In the current work we have isolated a cell line, SAMe-D (SAMe-Deficient) from the HCC of MAT1A KO mice as a model of a NASH-tumoral cell.

Methodology: We analyzed levels of LKB1 and Akt after giving an apoptotic stimulus (UVC) and after hormone response using Western blot. Immunoprecipitation assay was made to probe the interaction between HAUSP and p53. RNA-silencing of LKB1 was developed and the localization of relative proteins were detected by Immunocitochemistry analysis.

Results: Results presented here indicate that LKB1 plays a role in cell survival in those liver tumors. Firstly, we show that higher basal levels of LKB1 and Akt phosphorylation characterized SAMe-D cells. In fact, the activation of Akt in response to either a proapoptotic stimulus, or in response to an anabolic hormone such as insulin is partially independent of PI3 kinase. These results provide the first evidence of a cross-talk between LKB1 and Akt in response to stimulus of completely different nature, leading us to consider this process as a compensatory and salvage mechanism in SAMe-D global response. In addition, HAUSP, a deubiquitinating enzyme that regulates p53 level, was abnormally accumulated in the cytoplasm of SAMe-D cell and interacts with a wild type p53 form. Depletion of LKB1 resulted in a nuclear localization of HAUSP and p53 and a change in HuR shuttling after UV treatment. These results suggested that LKB1-mediates feedback regulation of HAUSP through post-translational modification, and this can modify the level of Mdm2, the major partner of HAUSP, and in consequence the localization of p53. Additionally, a novel regulatory mechanism of HAUSP levels through HuR mediated mRNA stabilization was identified in SAMe-D cells. Consistent with findings from SAMe-D cells, p53 cytoplasmic staining was increased in human HCC with an alcoholic steatohepatitis (ASH) and NASH etiology.

Conclusions: In conclusion, SAMe-D cells could be considered as an excellent tool for the development of new therapeutic strategies for this type of tumor.

P-7. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE PREDICCIÓN DE RESPUESTA A LA TERAPIA FARMACOLÓGICA EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DIGESTIVO

N. Grañé-Boladeras^a, L. Trigueros-Motos^a, M.R. Romero^b, P. Martínez-Becerra^b, L. Muñoz-Bellvís^b, M.A. Serrano^b, F.J. Casado^a, S. Beltran^c, J.J.G. Marín^b, M. Molina-Arcas^a y M. Pastor-Anglada^a

^aGrupo de Regulación de los Sistemas de Transporte. Departament de Bioquímica i Biología Molecular. Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB) y CIBER EHD (Acción Transversal en Cáncer). Barcelona. España.

^bLaboratorio de Hepatología Experimental y Vectorialización de Fármacos. Universidad de Salamanca y CIBER EHD (Acción Transversal en Cáncer). Salamanca. España.

^cPlataforma de Transcriptómica. Serveis Científic-Tècnics. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción: El principal problema para definir una terapia adecuada en el tratamiento del cáncer es la limitación en el conocimiento de las características genéticas del tumor para predecir su respuesta. El transporte de fármacos a través de la membrana plasmática celular está mediado por un amplio espectro de proteínas transportadoras, claves para la internalización y consiguiente acción citotóxica de estos compuestos. Recientemente, se ha sugerido que el análisis transcriptómico de genes que codifican para dichas proteínas en tumores puede conllevar la capacidad de predicción de respuesta terapéutica.

Objetivos: El objetivo último de este estudio es el desarrollo de un test reproducible que, mediante la caracterización de la expresión de una batería de genes, permita predecir la sensibilidad/resistencia a la quimioterapia de tumores digestivos.

Métodos: Se eligieron 15 líneas tumorales representativas del sistema gastro-hepático además de 5 líneas de glándula mamaria, para determinar la existencia de diferencias de expresión génica/citotoxicidad dentro de un mismo tipo celular o bien entre éstos. En base a los tratamientos más utilizados en terapia contra tumores gastro-hepáticos, se eligieron 6 fármacos antineoplásicos para realizar estudios de sensibilidad de las 20 líneas celulares a tratamientos de 48 horas. Dentro de dichos fármacos se encuentran derivados de nucleósidos como el 5-fluorouracilo, 5'-DFUR y la gemcitabina, y otros de distinta naturaleza química como paclitaxel, doxorubicina y cisplatino. Para realizar el análisis genómico utilizamos tarjetas microfúndicas (Applied Biosystems), una herramienta que nos permitió de manera rápida y fiable analizar la expresión de 93 genes a la vez, los cuales fueron cuidadosamente seleccionados según su papel en vías de activación y/o acción de cada uno de los fármacos.

Resultados: A partir de los valores mínimos de supervivencia hemos clasificado las distintas líneas en sensibles o resistentes para cada uno de los fármacos, analizando después la expresión génica diferencial entre los dos perfiles de respuesta al tratamiento obteniendo así aquellos genes que podrían ser indicativos de la respuesta al fármaco, tal y como se muestra en la figura 1 (a,c). Además, se ha observado como estos genes generan clusters (b,d) coincidiendo con los perfiles de citotoxicidad (claro = resistente, oscuro = sensible).

Conclusiones: Los resultados preliminares obtenidos anticipan combinaciones de genes cuya expresión correlaciona con la quimiosensibilidad, independientemente del origen de las líneas tumorales utilizadas. El análisis bioinformático, todavía en curso, ha de permitir identificar genes específicos de tumor y/o de fármaco que esperamos puedan ser validados en cohortes de pacientes como posible herramienta predictiva de respuesta terapéutica.

Agradecimientos: SAF2008-00577, CIBER-Acción Transversal en Cáncer, BFU2006-07556/BFI, Fundación Ramón Areces y 2005SGR00315.

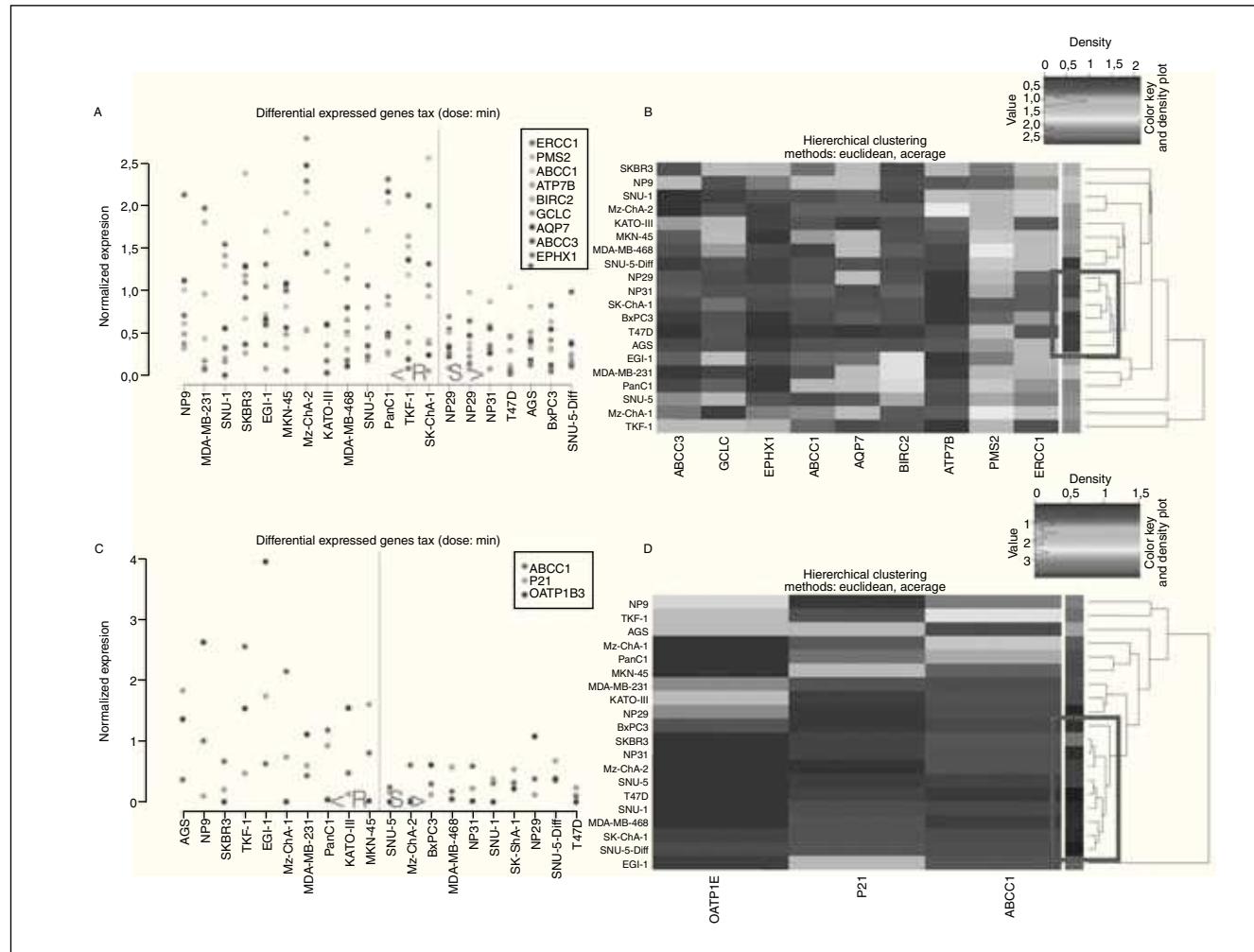


Figura 1

P-8. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN IN VITRO DE PTK787 SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN HEPATOCARCINOMA

M. Piva, S. Carbajo-Pescador, J. Martín-Renedo, J.L. Mauriz Gutiérrez, P. González y J. González-Gallego

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

Introducción: El carcinoma hepatocelular (HCC) es responsable de unas 600.000 muertes anualmente, siendo el quinto tipo de cáncer más común entre los hombres y el octavo entre mujeres en el mundo. El PTK787 es una nueva droga antiangiogénica muy prometedora en terapia antitumoral, en especial para el HCC por ser éste un tumor altamente vascularizado. Esta sustancia, podría no sólo frenar la formación de nuevos vasos sanguíneos sino que también, potencialmente, actuar de forma directa sobre las propias células tumorales.

Objetivos: Determinar el efecto del PTK787 sobre la proliferación de las líneas celulares derivadas de HCC humano HepG2, Hep3B, y HuH7; y verificar si su efecto potencial efecto antiproliferativo podría estar relacionado con la inducción de la apoptosis.

Métodos: Para nuestro estudio tratamos hepatocitos tumorales de las líneas HepG2, Hep3B y HuH7 con dos concentraciones dife-

rentes (10 y 20 microM) de PTK787 y a diversos tiempos (2, 4 y 6 días); como control se utilizaron células no tratadas o tratadas con vehículo (DMSO al 0,1%). Se procedió a determinar la viabilidad celular mediante el ensayo de MTT en las tres líneas celulares. También, se analizaron diversos parámetros relacionados con la apoptosis en la línea HuH7 (la más sensible al tratamiento), determinándose por espectrofluorimetría la actividad de las caspasas 3, 8 y 9. Además, se cuantificó mediante Western Blot la expresión de las proteínas Bax, Citocromo c y Fas-L.

Resultados: El tratamiento con PTK787 indujo una reducción en la proliferación celular, dosis y tiempo dependiente, en las 3 líneas celulares, siendo la más sensible HuH7 que mostró una reducción significativa desde el primer día de tratamiento ya a la dosis de 10 microM. El análisis de la apoptosis en la línea HuH7 mostró la inducción de la misma sólo a dosis de 20 microM, con incrementos estadísticamente significativos en la actividad de las caspasas 3, 8 y 9, y de la expresión de Bax, Citocromo C y Fas-L a dicha dosis.

Conclusiones: PTK787 parece ejercer un efecto directo sobre la proliferación celular en hepatocitos tumorales. Dicho efecto parece relacionado, al menos en parte, con una inducción de la muerte celular por apoptosis, tanto por vía intrínseca como por vía extrínseca a la dosis de 20 microM. Aunque son necesarios más estudios, nuestros experimentos indican que el fármaco PTK787 puede constituir una herramienta útil en el tratamiento del HCC, frenando no sólo la angiogénesis tumoral sino también la proliferación celular.

P-9. ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN Y MEDICIÓN DEL GPVH EN EL ESTADIAJE DE CARCINOMA HEPATOCELULAR RESECALE EN PACIENTES CON CIRROSIS COMPENSADA

E. Llop, A. Berzigotti, M. Reig, E. Erice, J.G. Abraldes, J. Bruix, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. IDIBAPS y CIBERehd. Barcelona. España.

Introducción: Los pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC), bilirrubina normal y gradiente de presión venosa hepática (GPVH) < 10 mmHg tienen bajo riesgo de descompensación tras la resección del CHC y pueden alcanzar una supervivencia > 70% a los 5 años. Los pacientes con GPVH ≤ 10 mmHg (hipertensión portal clínicamente significativa, HTPCS) frecuentemente desarrollarán descompensación postoperatoria y tendrán una supervivencia < 50% a los 5 años. Las guías clínicas actuales recomiendan la medición del GPVH para evaluar potenciales candidatos a resección hepática (Hepatology 2005, AASLD guidelines). Se ha sugerido que la elastografía de transición (FibroScan®) estimaría adecuadamente el GPVH. Nuestro objetivo fue evaluar la utilidad de la elastografía hepática en predecir HTPCS y en el estadioje del CHC resecable en pacientes con cirrosis hepática compensada y CHC.

Pacientes y métodos: Desde junio de 2007 a junio de 2009 se incluyeron 49 pacientes con cirrosis hepática Child-A y CHC potencialmente resecable referidos a nuestra unidad para medición del GPVH. Las mediciones de elastografía se realizaron el mismo día sin conocer el valor del GPVH.

Resultados: El GPVH se obtuvo en todos los pacientes. En 5 (10,2%) no se pudo realizar la medición de la rigidez hepática por obesidad. El GPVH y la medición de la rigidez hepática fueron posibles en 44, 35 varones. La edad media era de 61 ± 11 años. Un 73% con hepatitis C. La media del GPVH fue $9,5 \pm 4,6$ mmHg y la rigidez hepática $19,2 \pm 12,3$ kPa. Se observó una correlación directa entre el GPVH y la rigidez hepática ($r = 0,407$; p Pearson = 0,01). Utilizando el punto de corte de 13,6 kPa (Vizutti et al. Hepatology 2007), la sensibilidad fue del 90% y la especificidad del 46% con un valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) para detectar HTPCS del 58% y 85% respectivamente. Utilizando el de 21kPa (Bureau et al. Aliment Pharmacol Ther 2008), la especificidad se incrementó al 92% a expensas de reducir la sensibilidad al 50%. Los VPP y los VPN fueron 83 y 60% respectivamente. Un valor $\leq 13,6$ kPa descartaría HTPCS y un valor ≥ 21 kPa confirmaría HTPCS, pero 19 de 44 pacientes (43%) tenían un valor de elastografía en una zona gris (entre 13,6 y 21 kPa).

Conclusiones: Las mediciones con elastografía no son posibles en el 10% de los pacientes con cirrosis hepática compensada y CHC y en otro 40% no permitirán predecir la HTPCS. La elastografía de transición puede reducir la necesidad de medir el GPVH en el estadioje de CHC resecable en la mitad de pacientes con cirrosis compensada.

P-10. REDUCCIÓN EN LA VIABILIDAD Y PARADA DEL CICLO CELULAR EN LÍNEAS CELULARES DERIVADAS DE HEPATOCARCINOMA HUMANO TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE PPI-2458

J. Martín-Renedo, S. Carbajo, M. Piva, J.L. Mauriz y J. González-Gallego

Centro de Investigación Biomédica en Red: Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) e Instituto de Biomedicina. Universidad de León. León. España.

Introducción: El carcinoma hepatocelular (HCC) es el quinto tumor más frecuente en el mundo y la tercera causa de muerte debida al cáncer. Los medicamentos utilizados en el tratamiento del HCC presentan, en su mayoría, citotoxicidad y una gran varie-

dad de efectos secundarios. Una de las características del cáncer es la desregulación del ciclo celular y la aparición de resistencia a la apoptosis, procesos en los que está involucrado el gen p53, frecuentemente mutado durante la hepatocarcinogénesis. PPI-2458 es una nueva sustancia, con capacidad antiangiogénica y que podría presentar algún efecto directo sobre los hepatocitos tumorales.

Objetivos: Investigar el papel del gen p53 en la supervivencia y en el estado del ciclo celular en HCC humano, tras administración de PPI-2458.

Métodos: Se usaron 3 líneas derivadas de HCC humano: HepG2 (p53 wt), Huh7 (p53 mut Y220C) y Hep3B (p53 nulo), administrándose el fármaco PPI-2458 (1 microM) en el medio de cultivo durante distintos tiempos (2, 4 y 6 d). Posteriormente, se procedió a analizar la viabilidad celular mediante el ensayo de MTT y el ciclo celular mediante citometría de flujo.

Resultados: El tratamiento de las células con PPI-2458 fue capaz de disminuir la viabilidad en todas las líneas utilizadas, HepG2, Huh7 y Hep3B. En cuanto a la línea HepG2, la reducción en la viabilidad celular fue significativa a partir de los seis días de tratamiento (-44% vs control). En relación a las células Huh7 se pudo observar dicha reducción desde el principio de la exposición al antiangiogénico (2d), continuando este descenso progresivamente hasta los 6 días de tratamiento (-18 , -31 y -57% respectivamente vs control). Finalmente, en las células Hep3B la viabilidad se vio significativamente reducida a los 4 y 6 días de exposición al fármaco (-19 y -22%). En cuanto a la modificación del ciclo celular observamos un incremento estadísticamente significativo del número de células en la fase G0/G1, desde el mismo inicio del tratamiento (2 d) en los 3 tipos celulares.

Conclusiones: El PPI-2458 parece capaz de reducir la viabilidad celular de las líneas expuestas al mismo, HepG2, Huh7 y Hep3B, siendo capaz de conducir a una parada del ciclo celular en la fase G0/G1. Todos estos efectos, parecen ser independientes del nivel de expresión de p53. Nuestros resultados muestran que PPI-2458 podría actuar directamente sobre los hepatocitos tumorales reduciendo su proliferación mediante un mecanismo citostático aún no determinado.

P-11. LA ACUMULACIÓN DE ÁCIDOS BILIARES ACTÚA COMO FACTOR PROMOTOR DE COLANGIOPRÓTOCOLO CARCINOGÉNESIS EN RATAS

E. Lozano, R.I.R. Macías, M.J. Monte, A.G. Blázquez, R. Rosales, J. Vaquero, M. Fernández-Dolón y J.J.G. Marín

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

Introducción: El colangiocarcinoma presenta una incidencia creciente y una elevada mortalidad debido, en parte, a la dificultad de diagnosticarlo en las etapas iniciales de su desarrollo.

Objetivos: Poner a punto un modelo experimental de colangiocarcinoma en la rata e investigar el efecto promotor de colangiocarcinogénesis del acúmulo de ácidos biliares, que podría ser un factor favorecedor del desarrollo de estos tumores en situaciones de colestasis crónica.

Métodos: Para inducir la colangiocarcinogénesis se administró a las ratas tioacetamida (TAA). En algunos animales se combinó este tratamiento con una colestasis obstructiva por doble ligadura y sección del conducto biliar. Se recogieron muestras de hígado a las 4 y 8 semanas tras el inicio del tratamiento. Se realizaron estudios histológicos por tinción con hematoxilina-eosina o con tricrómico. La expresión de las proteínas CK-7, claudina-4, Neu, ASBT y GST- π se investigó mediante RT-PCR cuantitativa, Western-blot e inmunofluorescencia. Se recogieron muestras de suero para determinar

los niveles y especies moleculares de ácidos biliares y realizar una bioquímica completa.

Resultados: En ratas tratadas con TAA aparecía hipercolanemia. Se consiguieron niveles séricos de ácidos biliares marcadamente mayores en el grupo con tratamiento con TAA más colestasis. A las 4 semanas de tratamiento, sólo era posible detectar claudina-4 y débilmente GST-*pi* en el hígado de animales con colestasis más tratamiento con TAA. A las 8 semanas, era más evidente la expresión de claudina-4 y CK-7 en el hígado de animales con colestasis y fue más alta en animales con colestasis más TAA. Este cambio era dependiente de la dosis de TAA administrada. La expresión de GST-*pi* fue mayor en colestasis que en los animales tratados con TAA. La expresión de la proteína específica de células diferenciadas del epitelio biliar ASBT era detectable en el hígado control, pero desaparecía durante el desarrollo del colangiocarcinoma. Por el contrario el marcador de malignidad Neu no aparecía en ratas con colestasis y sólo se detectó en grupos tratados con TAA, aunque su expresión era más abundante cuando se combinaba TAA con colestasis.

Conclusiones: La acumulación de ácidos biliares en colestasis favorece la proliferación ductular y actúa como factor promotor de la colangiocarcinogénesis inducida químicamente en ratas por administración de TAA.

P-12. ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE VCAM-1 EN PACIENTES CON HEPATOCARCINOMA Y SU ASOCIACIÓN CON EL GRADO DE FUNCIÓN HEPÁTICA

A. Díaz-Sánchez^{a,b}, A. Matilla^a, O. Núñez^{a,c}, D. Rincón^a, R. Lorente^a, O. Lo Iacono^{a,d}, B. Merino^a, A. Hernando^a, G. Clemente^a y R. Bañares^a

^aSección de Hepatología CIBEREHD. HGU Gregorio Marañón. Madrid. España.

^bUnidad de Digestivo. Hospital Infanta Leonor. Madrid. España.

^cUnidad de Digestivo. Hospital Infanta Sofía. Madrid. España.

^dUnidad de Digestivo. Hospital del Tajo. Madrid. España.

Introducción: VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) está implicada en la angiogénesis y fibrogénesis hepática y recientemente se ha demostrado su influencia en la circulación hiperdinámica del cirrótico. El hepatocarcinoma (CHC) es un tumor con importante actividad angiogénica, en el que el aumento de expresión de VCAM-1 pudiera jugar un papel etiopatogénico.

Objetivos: Evaluar las diferencias en la concentración sérica de VCAM-1 en pacientes con hepatopatía crónica con y sin CHC y su asociación con las características del tumor y de la enfermedad hepática.

Material y métodos: La concentración sérica de VCAM-1 en sangre periférica (sVCAM-1P) y suprahepática (sVCAM-1H) se analizó mediante ELISA en 134 pacientes consecutivos con hepatopatía crónica a los que se realizó un estudio hemodinámico esplácnico, 58 de los cuales tenían CHC.

Resultados: Hubo una estrecha correlación entre los niveles de sVCAM-1P y sVCAM-1H en los pacientes con ($r = 0,85$) y sin CHC ($r = 0,77$) ($p = 0,0001$). La media de sVCAM-1H en el grupo con CHC fue de 3.099 ± 1.301 , y en el grupo sin CHC de 2.900 ± 1.424 ng/ml ($p > 0,05$), manteniéndose tras la estratificación de ambos grupos por Child. El tamaño tumoral medio fue de $4,8 \pm 3,7$ cm, uninodular en el 63,2%, afectación bilobar en el 19,2%, trombosis vascular maligna en 6,9% y estadio BCLC-A en el 55,2% de los pacientes. En el grupo con CHC se observó una correlación inversa significativa entre sVCAM-1H con el tamaño del nódulo mayor ($r = -0,36$) en los pacientes Child A. No se encontró asociación de sVCAM-1H con: extensión, tamaño total, trombosis maligna, estadio BCLC o número de nódulos. Se observó una asociación lineal significativa entre el estadio de Child y sVCAM-1H (Child A: 2.485 ± 1.294 vs Child B:

3.408 ± 1.338 vs Child C: 4.096 ± 862 ng/ml; $p = 0,007$), así como una correlación significativa con MELD ($r = 0,27$), bilirrubina ($r = 0,47$), albúmina ($r = -0,45$) y plaquetas ($r = -0,49$). Siete pacientes con CHC sin cirrosis presentaron una sVCAM-1H marcadamente inferior que los pacientes cirróticos con CHC (cirrosis 3.133 ± 1.301 vs no-cirrosis 1.496 ± 1.030 ng/ml; $p = 0,006$).

Conclusiones: La concentración sérica de VCAM-1 no difiere entre los pacientes cirróticos con y sin CHC con similar función hepática, por lo que no parece participar en su etiopatogenia. En los pacientes con CHC los niveles de VCAM-1 están claramente relacionados con la gravedad de la enfermedad hepática de base, y no con las características del tumor.

P-13. EFICACIA DE LA ECOGRAFÍA CON CONTRASTE ECOGRÁFICO SONOVUE® EN LA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR A TRATAMIENTOS LOCO-REGIONALES

J.F. Castroagudín, E. Molina, A.M. Álvarez-Castro y E. Domínguez-Muñoz

Unidad de Ecografía Digestiva e Intervencionista. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Santiago de Compostela. España.

Introducción: La técnica de imagen estándar para la evaluación de la respuesta terapéutica local del hepatocarcinoma (HCC) a las terapias loco-regionales es la TC con contraste IV, pero su coste, necesidad de inyección de contrastes yodados y el empleo de radiaciones ionizantes pueden restringir su aplicación periódica. La ecografía con contrastes ecográficos (CE-US) podría constituir una alternativa a la TC en la evaluación de la respuesta terapéutica del HCC a las terapias loco-regionales.

Objetivos: Analizar la eficacia de la CE-US en la evaluación de la respuesta terapéutica local del HCC a terapias loco-regionales: inyección percutánea de etanol (PEI), ablación por radiofrecuencia (RF) y quimoembolización transarterial (TACE).

Métodos: Se incluyeron de forma prospectiva 23 enfermos (100% varones, edad $65,8 \pm 7,7$ años) con HCC sometido a ablación percutánea mediante PEI y/o RF o terapia intravascular mediante TACE. Se realizó una exploración ecográfica mediante un equipo de ultrasonidos digital Hitachi EUB-8500 (Hitachi Medical Corporation, Tokio, Japón) tras la inyección de 2,4-5 ml de contraste ecográfico Sonovue® (Bracco, Milán, Italia) según protocolo estándar, a las 4 semanas del procedimiento terapéutico. Las imágenes fueron almacenadas digitalmente y evaluadas posteriormente por dos observadores independientes, categorizando cada nódulo explorado en necrosis completa (RC) o parcial (RP). A las 4 semanas del procedimiento terapéutico se realizó asimismo una TC con contraste intravenoso, evaluado por un radiólogo ciego para las características basales del tumor. Los resultados fueron analizados mediante el paquete estadístico GraphPad InStat versión 3.05 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EEUU).

Resultados: Se exploraron un total de 44 nódulos de HCC sometidos a RF ($n = 17$), PEI ($n = 18$) y TACE ($n = 9$). Las respectivas tasas de RC fueron de 75% para la CE-US y del 63,6% para la TC. En 6 nódulos identificados como totalmente necrosados en la CE-US, la TC mostró tejido neoplásico viable, mientras que en un único caso, la CE-US mostró tejido tumoral residual sin confirmación posterior en la TC. Los respectivos valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la CE-US fueron del 62,5%, 100%, 100% y 82%.

Conclusiones: En comparación con la TC, la CE-US proporciona unas prestaciones diagnósticas que la convierten en una técnica de imagen de utilidad en la evaluación de la respuesta terapéutica del HCC a los tratamientos loco-regionales.

P-14. IDENTIFICACIÓN DE UN NUEVO ANTIONCOGÉN HEPÁTICO: HNAA25P

C. Gázquez, M. Lasá, E. Larrea, J. Prieto y R. Aldabe

CIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La acetilación aminoterminal de proteínas se lleva a cabo mediante unos complejos enzimáticos formados por una subunidad catalítica y una o varias subunidades accesorias, que en el caso del complejo enzimático hNatB comprende a la subunidad catalítica denominada hNaa20p y la subunidad accesoria hNaa25p. En este trabajo analizamos los efectos de la variación de los niveles de expresión de los componentes del complejo enzimático hNatB: hNaa20p y hNaa25p.

Métodos: para variar los niveles de expresión de las proteínas hNaa20p y hNaa25p transfectamos siRNA específicos frente a estas proteínas y analizamos los efectos generados sobre el desarrollo del ciclo celular y la capacidad de las células de crecer sin estar unidas a ningún sustrato mediante un ensayo de crecimiento en soft-agar. La interacción de las proteínas fue determinada mediante ensayos de coinmunoprecipitación a partir de extractos celulares. La determinación de los niveles de expresión de hNaa25 en muestras tumorales se realizó extrayendo el RNA de biopsias hepáticas almacenadas en el departamento de Hepatología y Terapia Génica del CIMA y cuantificando la expresión génica mediante un análisis RT-PCR en tiempo real.

Resultados: Al inhibir la expresión de las subunidades de hNatB comprobamos el mismo fenómeno que se ha descrito en los otros complejos enzimáticos hNat, donde al inhibir la expresión de la subunidad accesoria, hNaa25p, se produce la degradación de la subunidad catalítica, hNaa20p, pero no viceversa. Cuando analizamos los efectos de la inhibición de la expresión de las proteínas hNaa20p y hNaa25p en diferentes líneas celulares comprobamos que al inhibir hNaa20p se produce una parada del ciclo celular, mientras que al inhibir la expresión de hNaa25p se produce una mayor proliferación celular. En correlación con estos datos comprobamos que cuando analizábamos la capacidad de proliferación de las células cuando no están unidas a un sustrato se producía una mayor proliferación cuando la proteína hNaa25p no estaba presente en las células. Posteriormente comprobamos que cuando sobreexpresábamos la proteína hNaa25p en las células se produce un descenso en la proliferación celular. Cuando analizamos muestras de hepatoma humano comprobamos que existe un descenso de la expresión de hNaa25 en los tumores hepáticos respecto a la expresión observada en tejido sano. Este efecto observado debe ser independiente de la actividad del enzima hNatB ya que en ambos casos no se encuentra presente la subunidad catalítica hNaa20p. Un posible mecanismo para explicar este fenómeno puede estar basado en la interacción observada entre CDK2 y el complejo hNatB.

Conclusiones: La proteína hNaa25p presenta una capacidad anti-proliferativa en líneas celulares y su expresión se encuentra disminuida en muestras de hepatocarcinoma humano, todo lo cual indica que esta proteína puede tener una actividad antioncogénica.

P-15. LA SOBREEXPRESIÓN DE LA SINTASA ENDOTELIAL DEL ÓXIDO NÍTRICO (ENOS) EN CÉLULAS ENDOTELIALES LINFÁTICAS (LYECs) INDUCE DISFUNCIÓN LINFÁTICA EN RATAS CIRRÓTICAS (CH) CON ASCITIS

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

^aServicio de Bioquímica y Genética Molecular.

^bUnidad de Hepatología-Institut de Malalties Digestives.

Hospital Clínic y Provincial de Barcelona. IDIBAPS. CIBERehd. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción: El sistema linfático tiene una importancia crucial en el mantenimiento de la homeostasis de fluidos. Las complicaciones más comunes de la cirrosis son la aparición de ascitis y edema periférico. En este contexto, los objetivos de este estudio fueron investigar si en la cirrosis existe una disfunción linfática que contribuya al acúmulo de líquido extravascular y determinar cuáles son los mecanismos implicados.

Métodos: La cirrosis fue inducida por inhalación de CCl4. La funcionalidad de los vasos linfáticos se evaluó por linfangiografía. LyECs mesentéricas de ratas control (CT) y CH se aislaron usando un anticuerpo anti-podoplanina (Sigma). Para valorar el efecto de la inhibición de eNOS en la funcionalidad linfática, ratas CH fueron tratadas con L-NMMA (0,5 mg/Kg/día una semana). Paralelamente, y para excluir el efecto hipertensivo asociado al L-NMMA, ratas CH fueron tratadas con midodrina (5 mg/Kg/día una semana).

Resultados: La condición de cirrosis, comparada con la condición CT, se asoció a una disfunción linfática caracterizada por la disminución de vasos linfáticos funcionales en la zona esplácnica ($1,2 \pm 0,6$ vs $7,4 \pm 0,9$ vasos fluorescentes/campo $p < 0,001$, respectivamente) y periférica ($3,0 \pm 0,4$ vs $6,5 \pm 1,7$ vasos fluorescentes en oreja $p < 0,001$, y $2,7 \pm 0,3$ vs $9,5 \pm 1,8$ estructuras de honeycomb fluorescentes en cola $p < 0,05$). Considerando que la contractibilidad de la capa muscular lisa de los vasos linfáticos colectores es uno de los factores que controla el flujo linfático, evaluamos si un incremento en la producción de óxido nítrico (NO) podía estar implicado en esta disfunción. La abundancia de eNOS fue significativamente superior en LyECs de ratas CH comparadas con LyECs de ratas CT, así como la acumulación de NO_2^- en el medio de cultivo. Además, el mismo grupo de ratas CH utilizado para detectar la disfunción linfática mostró una mejora significativa en la captación de FITC-dextrano tras recibir un tratamiento con L-NMMA, comparado con ratas CH tratadas con midodrina ($6,5 \pm 0,6$ vs $3,3 \pm 0,4$ vasos fluorescentes en oreja, $p < 0,005$, respectivamente). El efecto beneficioso del tratamiento con L-NMMA no se debió a un aumento en la presión arterial media (MAP), puesto que no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos ($88,4 \pm 4,7$ vs $96,9 \pm 2,2$ mmHg).

Conclusiones: Estos resultados indican que la cirrosis está asociada a una disfunción linfática causada por una sobreproducción de óxido nítrico originada en el endotelio linfático.

P-16. INSUFICIENCIA RENAL EN LA CIRROSIS HEPÁTICA: VALOR PRONÓSTICO DE LA CAUSA DE INSUFICIENCIA RENAL. ESTUDIO PROSPECTIVO DE 562 PACIENTES

M. Martín-Llahí, M. Guevara, A. Torre, C. Fagundes, M. Marinelli, T. Restuccia, G. Pereira, M. Pavesi, V. Arroyo y P. Ginès

Hospital Clínic de Barcelona. CIBERehd. Barcelona. España.

Introducción: Los pacientes con cirrosis hepática pueden presentar insuficiencia renal por distintas causas. Se desconoce si la causa de la insuficiencia renal tiene implicaciones pronósticas.

Objetivos: Con el objetivo de investigar si la causa de insuficiencia renal condiciona el pronóstico, se incluyó un total de 562 pacientes consecutivos con insuficiencia renal en un estudio prospectivo durante un período de 6 años. Las causas de insuficiencia renal fueron: infección bacteriana ($n = 212$), hipovolemia ($n = 154$), síndrome hepatorenal sin infección ($n = 60$), enfermedad renal orgánica ($n = 42$), nefrotóxica ($n = 20$) o mixta ($n = 74$). La insuficiencia renal por infección bacteriana y por síndrome hepatorenal se consideraron conjuntamente dado que tienen un mecanismo patogénico similar. Los pacientes con insuficiencia renal por nefrotoxicidad y de causa mixta se excluyeron del análisis.

Resultados: A los 3 meses, la mortalidad fue significativamente superior en los pacientes con insuficiencia renal por síndrome hepatorenal o infección bacteriana que en el resto de pacientes (67%

vs 33%, $p \leq 0,0001$). Para evaluar si el valor pronóstico de la causa de insuficiencia renal podía depender de otros factores, se generó un modelo estadístico en el que el valor pronóstico de la causa de insuficiencia renal se ajustó en función de las variables con valor predictivo en un análisis univariado de supervivencia. Las únicas variables que añadieron valor predictivo a la causa de insuficiencia renal fueron la puntuación de MELD y la concentración sérica de sodio (odds ratio: 1,61 (IC: 1,01-2,56, $p: 0,045$), 1,14 (IC: 1,1-1,19, $p < 0,0005$) y 0,96 (IC: 0,92-0,99, $p: 0,006$), respectivamente).

Conclusiones: Los resultados de este estudio indican que la causa de insuficiencia renal añade valor predictivo a la puntuación de MELD y al sodio sérico en la evaluación del pronóstico de los pacientes con cirrosis hepática e insuficiencia renal. Estos resultados tienen implicaciones en la evaluación de la gravedad de los pacientes con cirrosis e insuficiencia renal en lista de espera de trasplante hepático.

P-17. VALOR PRONÓSTICO DE LA INSUFICIENCIA SUPRARRENAL RELATIVA EN LAS DIFERENTES DESCOMPENSACIONES DE LA CIRROSIS

J. Acevedo, J. Fernández, M. Castro, D. Roca, P. Ginès y V. Arroyo

Liver Unit. IMDM. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. IDIBAPS y Ciberehd. Barcelona. España.

Introducción: La insuficiencia suprarrenal relativa (ISR) es frecuente en pacientes cirróticos con sepsis grave o shock séptico y se asocia a un mal pronóstico. Sin embargo, su impacto sobre otras descompensaciones de la cirrosis se desconoce.

Objetivos: Evaluar la prevalencia y el valor pronóstico de la ISR en la cirrosis descompensada.

Métodos: Estudio prospectivo que evaluó en las primeras 24 horas del ingreso hospitalario mediante la realización del test de corticotropina (250 µg EV), la presencia de ISR definida como un cortisol total basal < 15 µg/dl y/o un delta de cortisol < 9 µg/dl (criterio 1) o un delta de cortisol < 9 µg/dl (criterio 2) en todos los pacientes con cirrosis descompensada ingresados en nuestra unidad entre febrero del 2007 y octubre del 2009. Se calculó asimismo el cortisol libre basal (cortisol total basal/transcortina).

Resultados: Un total de 188 pacientes presentaron 220 ingresos. La prevalencia de ISR según los criterios 1 y 2 fue del 64 y 27% en el total de la serie, del 52 y 21% en la PBE, del 69 y 24% en la infección no PBE, del 82 y 46% en la ascitis no infectada, del 54 y 31% en la encefalopatía hepática, del 58 y 26% en la hemorragia digestiva, del 71 y 29% en el síndrome hepatorenal, del 49 y 36% en el shock y del 80 y 22% en un grupo de 10 pacientes ambulatorios ($p = ns$). La prevalencia de ISR fue similar en pacientes CHILD A/B vs C (67 y 26% vs 59 y 29%; criterios 1 y 2, respectivamente). El índice de cortisol libre fue de $0,029 \pm 0,08$ µg/dl en el grupo de pacientes no descompensados, de $0,063 \pm 0,03$ en los descompensados sin shock y de $0,137 \pm 0,1$ µg/dl en aquellos con shock séptico ($p = 0,016$). La mortalidad hospitalaria fue del 18% (21 a los 3 meses). No se observaron diferencias significativas en la mortalidad entre los pacientes con y sin ISR. En el análisis multivariado se identificaron como factores predictivos independientes de mortalidad hospitalaria la presencia de shock (OR: 4,9) y el MELD score (OR: 1,2). Estos mismos factores y el cortisol total basal (OR: 1,06) predijeron de manera independiente la mortalidad a los 3 meses.

Conclusiones: La prevalencia de ISR es alta en la cirrosis descompensada pero carece de significación clínica. La activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal es un factor de mal pronóstico a corto plazo en la cirrosis avanzada.

P-18. PAPEL DE LAS UNIONES INTERCELULARES EN EL INCREMENTO DE LAS RESISTENCIAS VASCULARES INTRAHEPÁTICAS EN RATAS CIRRÓTICAS

M. Hernández-Guerra^{a,b}, Z. Adrián^a, J.C. García-Pagán^c, B. Abrante^b, E. Salido^b, J. Bosch^c y E. Quintero^{a,b}

^aUnidad Hepática.

^bUnidad de Investigación.

Hospital Universitario de Canarias. Las Palmas de Gran Canaria. España.

^cLaboratorio de Hemodinámica hepática. Hospital Clínic. Barcelona. España.

Introducción: En la cirrosis existe una menor respuesta vasodilatadora a acetilcolina (ACH) que determina un aumento de la resistencia vascular intrahepática. Recientemente, estudios fisiológicos sobre vasos sanguíneos señalan que las uniones intercelulares vasculares dependientes de conexinas 40 y 43, son esenciales en la regulación del tono vascular. De hecho, su modulación farmacológica y genética está asociada a una respuesta anormal del tono vascular ACH-dependiente.

Objetivos: Examinar el papel de las uniones intercelulares en la regulación del tono vascular intrahepático en ratas en diferente estadio de cirrosis.

Métodos: En ratas Sprague-Dawley sanas y con cirrosis inducida por inhalación de tetracloruro de carbono (CCL4) sin ascitis (13 semanas) y con ascitis (> 18 semanas), se les realizó estudio de la presión de perfusión portal (PP) con curvas dosis-respuesta a metoxamina (MTX, 10-4M) y ACH (10-8, 10-7, 10-6 mol/l), en presencia del inhibidor específico de las uniones intercelulares 18- α -glicirrétilico (GLY, 100 µM) o vehículo. Un tercer grupo de ratas sin exposición a CCL4 se incluyó como grupo control.

Resultados: Tras incubar con GLY, la PP aumentó de forma significativa en el grupo de ratas control ($40 \pm 10\%$ vs $0,03 \pm 0,1\%$, $p < 0,01$), en el grupo de ratas cirróticas sin ascitis ($16 \pm 3\%$ vs $2 \pm 1\%$, $p < 0,01$) y ratas con ascitis ($47 \pm 6\%$ vs $1,9 \pm 1,3\%$, $p < 0,01$). Sin embargo, este incremento de la PP no se asoció a una diferente respuesta vasoconstrictora a MTX en el grupo de GLY comparado con controles en ninguno de los grupos. En ratas sanas incubadas con GLY la respuesta vasodilatadora ACH-dependiente fue significativamente menor comparada con vehículo ($p < 0,05$). Sin embargo, no se objetivaron diferencias tras la incubación con GLY en ratas cirróticas sin ascitis ($p = 0,07$) ni en ratas con ascitis ($p = 0,1$).

Conclusiones: Las uniones intercelulares modulan el tono vascular intrahepático en ratas sanas y cirróticas. La respuesta vasodilatadora ACH-dependiente mediada por conexinas está alterada en ratas cirróticas, lo que sugiere que estas uniones están involucradas en la fisiopatología de la hipertensión portal. Por lo tanto, el incremento de la actividad/funciónde estos canales tiene implicaciones clínicas ya que podrían mejorar la respuesta vasodilatadora ACH-dependiente.

Estudios realizados con financiación del Instituto de Salud Carlos III-FIS (07/583) y el Programa de Intensificación de Actividad Investigadora (INT07/173).

P-19. LA LIGADURA ENDOSCÓPICA ES CLARAMENTE SUPERIOR A LA ESCLEROSIS EN EL TRATAMIENTO AGUDO DE LA HEMORRAGIA POR VARICES ESOFÁGICAS, ESPECIALMENTE EN PACIENTES DE ALTO RIESGO

S. Augustin, J.T. Altamirano, L. Muntaner, A. González y J. Genescà

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: Estudios previos sugieren que, tras un episodio de hemorragia por varices esofágicas, el uso de variables clínicas permite estratificar los pacientes según el riesgo de recidiva y muerte.

No seleccionados	Esclerosis (n = 101)	Ligadura (n = 148)	<i>p</i>
Todos (n = 249)	33% (33/101)	16% (24/148)	0,002
Bajo riesgo (n = 120)	16% (7/43)	12% (9/77)	0,478
Alto riesgo (n = 129)	45% (26/58)	21% (15/71)	0,004
Seleccionados	Esclerosis (n = 74)	Ligadura (n = 110)	<i>p</i>
Todos (n = 184)	27% (20/74)	6% (7/110)	< 0,001
Bajo riesgo (n = 93)	15% (5/34)	5% (3/59)	0,136
Alto riesgo (n = 91)	37% (15/40)	8% (4/51)	0,001

Se desconoce el efecto de las distintas modalidades de tratamiento endoscópico en los diferentes subgrupos de riesgo.

Objetivos: Analizar la mortalidad tras un episodio de hemorragia por varices esofágicas en distintos grupos de riesgo según el tratamiento endoscópico utilizado: esclerosis o ligadura.

Métodos: Estudio observacional en una cohorte prospectiva de 249 pacientes cirróticos consecutivos (años 2001-2009) con hemorragia por varices esofágicas. Todos los pacientes fueron tratados en la fase aguda con somatostatina + profilaxis antibiótica + tratamiento endoscópico (esclerosis o ligadura). Se analizó la mortalidad a las 6 semanas según grupo de riesgo (Bajo: Child B sin hemorragia activa en endoscopia inicial o Child A; Alto: Child B con hemorragia activa o Child C) y tratamiento endoscópico recibido. Asimismo, se repitió el análisis en el subgrupo de 184 pacientes susceptibles de ser incluidos en estudios terapéuticos (Seleccionados: Child < 14, edad < 80, no hepatocarcinoma ni trombosis portal).

Resultados: No existieron diferencias significativas en las características basales de los distintos subgrupos terapéuticos. La mortalidad a las 6 semanas fue de 23% (todos los pacientes) y de 15% (seleccionados). La mortalidad según grupos de riesgo y tratamiento recibido se muestra en la tabla. La ligadura fue superior a la esclerosis en todos los grupos de riesgo. El mayor beneficio se observó en los pacientes seleccionados de alto riesgo.

Conclusiones: En la hemorragia por varices esofágicas, la ligadura endoscópica es claramente superior a la esclerosis, especialmente en pacientes de alto riesgo, y debería considerarse el tratamiento de elección.

P-20. DETECCIÓN DE ADN BACTERIANO EN LA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL Y SECUENCIACIÓN DEL GEN 16S rDNA

G. Soriano^{a,b}, O. Esparcia^c, M. Montemayor^c, C. Guarner-Argente^a, R. Pericas^c, X. Torras^{a,b}, N. Calvo^d, E. Román^{a,b}, F. Navarro^c, C. Guarner^{a,b} y P. Coll^c

^aServicio de Patología Digestiva.

^bCIBERehd.

^cServicio de Microbiología.

^dServicio de Oncología.

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

Introducción: En los pacientes con peritonitis bacteriana espontánea (PBE) el cultivo es negativo en más del 50% de los casos, a pesar de la inoculación de líquido ascítico en frascos de hemocultivo.

Objetivos: Estudiar si la detección de la región conservada del gen 16S rDNA mediante PCR en tiempo real y secuenciación aumenta el rendimiento del cultivo en el diagnóstico microbiológico de la PBE en pacientes cirróticos.

Pacientes y métodos: Se han incluido todos los pacientes cirróticos con recuento de neutrófilos > 250/mm³ en líquido ascítico y cultivo positivo (grupo PBECP) o negativo (grupo PBECN), un grupo de pacientes cirróticos con recuento de neutrófilos < 250/mm³ y cultivo negativo (grupo ascitis estéril, AE) y otro grupo de pacientes con ascitis neoplásica (AN). Se ha realizado estudio microbiológico del líquido ascítico mediante cultivo convencional e inoculación en frascos de hemocultivo. Se ha estudiado la presencia de DNA bacteriano en líquido ascítico mediante PCR en tiempo real y secuenciación del gen 16S rDNA.

Resultados: En el grupo PBECP (n = 25), se detectó DNA bacteriano en 23/25 casos (92%). En 12 casos la secuenciación permitió la identificación de género o especie, en 8 de los cuales coincidió con el cultivo y en 4 no. En 11 casos la secuenciación no obtuvo resultados concluyentes y en 2 no se detectó DNA bacteriano. En los 30 episodios de PBE con cultivo negativo, se detectó DNA bacteriano en 16 casos (53,3%) (*p* = 0,004 respecto PBECP). La secuenciación permitió identificar el posible microorganismo implicado en 6 casos y fue no concluyente en 10. En 14 casos la PCR fue negativa. En el grupo AE (n = 20), se detectó DNA bacteriano en 12/20 casos (60%) (*p* = 0,01 respecto PBECP y *p*NS respecto PBECN). En 6 de los 12 casos la secuenciación permitió la identificación de *E. coli*, y fue no concluyente en 6. En los 8 casos restantes fue negativa. En todas las muestras de los pacientes con AN (n = 27) la PCR fue negativa (*p* < 0,001 respecto a los otros grupos).

Conclusiones: 1) En el 46,6% de las PBE con cultivo negativo no se consigue detectar DNA bacteriano en líquido ascítico, lo que puede cuestionar la etiología bacteriana en estos casos. 2) No siempre es posible secuenciar el DNA bacteriano amplificado en líquido ascítico con esta metodología. 3) La presencia de DNA procaríota no secuenciable en líquido ascítico en pacientes cirróticos podría corresponder a translocaciones polimicrobianas previas y requiere posteriores estudios.

P-21. UN MICROSATÉLITE PRESENTE EN LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN GLS PREDICE EL RIESGO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA. ANÁLISIS FUNCIONAL “IN VITRO”

J.A. del Campo^a, M. Jover^a, J.L. Royo^b, J.J. Galán^b, S. Mañes^c, A. Ruiz^b y M. Romero-Gómez^a

^aUnidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas & CIBERehd. Hospital Universitario de Valme. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

^bStructural Genomics. Neocodex, S.A. Sevilla. España.

^cDepartamento de Inmunología y Oncología. Centro Nacional de Biotecnología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Madrid. España.

Antecedentes y objetivos: En trabajos desarrollados previamente por nuestro grupo, se ha estudiado la región codificante y las regiones 5'UTR y 3'UTR del gen GLS en 20 pacientes cirróticos seleccionados en base a sus antecedentes genéticos (haplotipos) y riesgo de desarrollar encefalopatía hepática. Los resultados se han obtenido de una cohorte de estimación (n = 100) y otra de validación (n = 156) de pacientes cirróticos cuyo seguimiento se ha realizado en 6 hospitales españoles. En dicho estudio se ha puesto de manifiesto una relación significativa entre la presencia de un microsatélite en el promotor del gen GLS y la probabilidad de desarrollar encefalopatía hepática. En base a estos datos, se han llevado a cabo una serie de ensayos funcionales cuyo objetivo era la determinación del papel de la presencia del microsatélite (en sus

versiones corto y largo) sobre los niveles de actividad enzimática empleando como testigo la actividad luciférica.

Métodos: Se ha amplificado mediante PCR un fragmento de 1,7 Kb aguas arriba del punto de inicio de traslación del gen GLS humano. Como molde para la PCR se ha empleado DNA de la línea germinal de pacientes portadores de las variantes del microsatélite con 6, 14 y 29 repeticiones del trinucleótido GCA. Los fragmentos resultantes se clonaron en el plásmido pGL3. Las construcciones resultantes se han empleado para transfectar transitoriamente células HEK293 utilizando el sistema *jetPl*. Las células se colocaron en placas de 6 pocillos a una densidad de 200.000 células por pocillo y se incubaron a 37 °C, 5% de CO₂ de 24 a 72 horas. Se tomaron muestras de células a los tiempos indicados y los extractos celulares se emplearon para el análisis de la actividad luciférica utilizando el sistema Dual Luciferase Assay System de Promega.

Resultados: Se ha identificado y caracterizado un microsatélite en la región 5' UTR del gen GLS, con una longitud variable comprendida entre 177 y 210 pares de bases. Hemos clasificado el microsatélite en corto (177-195 pb) y largo (198-210 pb). Hemos establecido previamente en pacientes cirróticos una asociación significativa entre la presencia del microsatélite largo-largo y la probabilidad de desarrollar encefalopatía hepática. Estudios funcionales han puesto de manifiesto que existe una relación directa entre la longitud del microsatélite y los niveles de actividad luciférica, lo que sugiere un papel funcional en los niveles de expresión del gen GLS.

Conclusiones: La presencia del microsatélite largo-largo en pacientes cirróticos determina una mayor probabilidad de desarrollar encefalopatía hepática y los estudios de funcionalidad sugieren un papel determinante en los niveles de expresión del gen GLS.

P-22. LA HIPONATREMIA ES UNA COMPLICACIÓN FRECUENTE DEL TRATAMIENTO CON TERLIPRESINA DE LA HEMORRAGIA DIGESTIVA POR HIPERTENSIÓN PORTAL

E. Solà, S. Lens, M. Guevara, M. Pavesi, C. Fagundes, M. Martín-Llahí, G. Henrique Pereira, J. González-Abraldes, A. Mas, V. Arroyo y P. Ginès

Unidad de Hepatología. Institut Clínic de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. Barcelona. España.

La terlipresina es un análogo de la vasopresina que se utiliza para el tratamiento de la hemorragia digestiva por hipertensión portal debido a su acción vasoconstrictora esplácnica mediada por los receptores V1. A pesar de que la terlipresina teóricamente presenta un efecto antidiurético por su acción sobre los receptores V2 renales, el posible desarrollo de hiponatremia en pacientes tratados con terlipresina por hemorragia digestiva no ha sido estudiado. Con este objetivo se revisó de forma retrospectiva una serie consecutiva de 58 pacientes con hemorragia digestiva por hipertensión portal grave (sin respuesta a somatostatina) tratados con terlipresina. La administración de terlipresina (2 mg/4h durante 5 días) se asoció a una reducción significativa de la concentración sérica de sodio en el conjunto de pacientes (134,9 a 130,5 mEq/l, $p < 0,002$). Treinta y seis de los 58 pacientes (62%) desarrollaron hiponatremia durante el tratamiento, definida como una reducción > 5 mEq/L con un valor final inferior a 135 mEq/l. En dichos pacientes la concentración de sodio disminuyó de 136,1 a 128,3 mEq/L (media 7,8 mEq/l; $p < 0,0001$) y la media de la concentración de sodio mínima fue de 123 mEq/l (109-134). Veintiún pacientes (58,3%) presentaron un sodio mínimo inferior a 125 mEq/l. La hiponatremia fue transitoria en 33 casos al suspender el tratamiento. Un paciente con hiponatremia severa tratado con suero salino hipertónico desarrolló una mielinolisis central pontina. Los factores predictivos independientes de hiponatremia fueron la bilirrubina y creatinina sérica bajas, de forma que los pacientes con enfermedad hepática menos avanzada presentaron un mayor riesgo de desarrollo de hiponatremia. En conclusión, la hiponatremia es una

complicación frecuente del tratamiento con terlipresina en la hemorragia digestiva grave por hipertensión portal. La hiponatremia es intensa aunque transitoria en la mayoría de los casos y más frecuente en los pacientes con cirrosis menos avanzada. Esta complicación debe ser tenida en cuenta al utilizar terlipresina para el tratamiento de la hemorragia digestiva por hipertensión portal.

P-23. LA ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL ES EL PRINCIPAL DETERMINANTE MODIFICABLE DE SUPERVIVENCIA TEMPRANA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON HEMORRAGIA POR VARICES ESOFÁGICAS TRATADOS CON LA TERAPIA DE ELECCIÓN ACTUAL

S. Augustin, J.T. Altamirano, L. Muntaner, A. González y J. Genescà

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: Los estudios pronósticos disponibles en hemorragia por varices esofágicas incluyen pacientes con tratamiento subóptimo según las recomendaciones actuales.

Objetivos: Identificar factores predictivos de mortalidad temprana tras una hemorragia por varices esofágicas en pacientes que han recibido tratamiento de elección actual, mediante un nuevo enfoque estadístico basado en árboles de decisión tipo CART.

Métodos: Cohorte prospectiva de 148 pacientes cirróticos consecutivos (años 2001-2009) con hemorragia por varices esofágicas tratados en la fase aguda con la terapia de elección según recomendaciones actuales (somatostatina + profilaxis antibiótica + ligadura endoscópica). Se realizó un análisis multivariado mediante 2 técnicas (regresión logística y CART) para identificar factores predictivos independientes de mortalidad a las 6 semanas (mortalidad temprana), con especial énfasis en variables potencialmente modificables disponibles al ingreso.

Resultados: Las tasas de recidiva hemorrágica y mortalidad temprana fueron de 14% y 16%, respectivamente. El análisis mediante

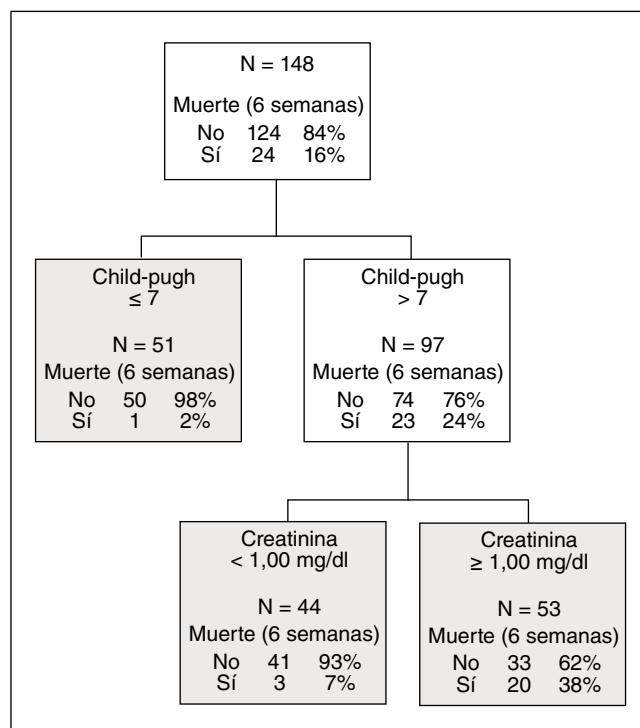


Figura 1

regresión logística permitió la identificación de puntuación de Child (OR 1,5, IC95 1,1-1,9, $p = 0,003$), creatinina $> 1,35$ mg/dL (OR 3,9, IC95 1,0-11,4, $p = 0,01$) y hepatocarcinoma (OR 5,4, IC95 1,4-20,4, $p = 0,01$) como factores de riesgo independientes de mortalidad. El análisis CART proporcionó un algoritmo sencillo (ver Figura), basado en la combinación de puntuación Child y creatinina, que permitía una discriminación precisa de 2 subgrupos con pronóstico claramente distinto: uno de bajo riesgo (2-7% mortalidad), que incluía pacientes con Child ≤ 7 y creatinina basal $\geq 1,0$ mg/dL; y uno de alto riesgo (38% mortalidad), que incluía pacientes con Child > 7 y creatinina $\geq 1,0$ mg/dL (mortalidad 23% si creatinina 1,0-1,35, 54% si creatinina $> 1,35$).

Conclusiones: En la hemorragia por varices esofágicas, la alteración de la función renal es el principal determinante modificable de mortalidad temprana, y debería considerarse como objetivo de estudios terapéuticos específicos.

P-24. MARCADORES PRECOCES DE INFECCIÓN BACTERIANA EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

J. Acevedo, J. Fernández, M. Castro, D. Roca, P. Ginès y V. Arroyo

Liver Unit. IMDM. Hospital Clinic. Universidad de Barcelona.

IDIBAPS y Ciberehd. Barcelona. España.

Introducción: La respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), la proteína C reactiva (PCR) y la leucocitosis son los marcadores de infección bacteriana habitualmente empleados en la población general. Su utilidad en el paciente cirrótico es probablemente menor.

Objetivos: Estudiar la utilidad de diferentes parámetros clínicos y analíticos en el diagnóstico de las infecciones bacterianas en la cirrosis hepática.

Método: Estudio prospectivo que evaluó en las primeras 24 horas del ingreso hospitalario los marcadores de infección ya citados, el factor Von Willebrand (Ag-vWF), la transcritina y el colesterol total en todos los pacientes con cirrosis descompensada entre febrero del 2007 y octubre del 2009.

Resultados: Un total de 188 pacientes presentaron 125 infecciones en 220 ingresos. Un 52% de los pacientes infectados presentaron SIRS vs 36% de los pacientes no infectados ($p = 0,02$). La prevalencia del SIRS fue del 54% en la PBE, del 45% en las infecciones no PBE, del 37% en pacientes con ascitis no infectada, del 57% en el shock hipovolémico y del 85% en el shock séptico. La presencia de SIRS mostró una sensibilidad del 51%, una especificidad del 66%, una valor predictivo positivo (VPP) del 60% y un valor predictivo negativo (VPN) del 57% para el diagnóstico de infección bacteriana. Los pacientes infectados presentaron una PCR más elevada ($5,4 \pm 4,6$ vs $1,8 \pm 2,6$ mg/dL, $p < 0,001$), más leucocitosis ($10,0$ vs $6,4 \times 10^9/l$, $p < 0,001$) y unos niveles de Ag-vWF más elevados (457 ± 193 vs 368 ± 206 U/dL, $p = 0,002$) que los no infectados. Por el contrario presentaron niveles más bajos de transcritina (25 ± 9 vs 32 ± 12 μ g/ml, $p < 0,001$) y de colesterol total (89 ± 42 vs 115 ± 46 mg/dL, $p < 0,001$). Las áreas bajo la curva (AUC) para el recuento de leucocitos en sangre (0,67), los niveles séricos de Ag-vWF (0,66), los niveles plasmáticos de transcritina (0,67) y el colesterol sérico total (0,69). La PCR mostró la mejor AUC: 0,81. Un PCR ≥ 2 mg/dL mostró una sensibilidad de 76%, una especificidad de 69%, un VPP del 71% y un VPN del 73% para el diagnóstico de infección. Dicha capacidad diagnóstica de la PCR se mantuvo en el subgrupo de pacientes sin shock.

Conclusiones: La PCR, con un punto de corte de 2 mg/dL, es el marcador clínico más útil para identificar de manera precoz a los pacientes cirróticos infectados. Otros marcadores de infección como la leucocitosis, el Ag-vWF y el SIRS muestran una peor capacidad diagnóstica.

P-25. ASOCIACIÓN ENTRE POLIMORFISMOS EN EL GEN DE LA AQUAPORINA-1 Y LA HIPONATREMIA DILUCIONAL EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

A. Guerra-Ruiz, E. Fábrega, A. Berja, M. García-Unzueta, M. López, M. Arias, J.A. Amado y F. Pons-Romero

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

Introducción: La retención de agua es un problema clínico importante en pacientes con cirrosis hepática. Los factores implicados en la misma y la aparición de hiponatremia dilucional (HD) son complejos, y podrían contribuir factores genéticos del paciente. La proteína especializada en la formación de poros acuosos, aquaporina-1 (AQP-1), se expresa abundantemente en los túbulos proximales, en la rama descendente del asa de Henle y en los vasos rectos. En un estudio previo de nuestro grupo observamos una probable asociación entre la HD y la presencia de polimorfismos (SNPs) en el gen de la AQP-1.

Objetivos: Iniciar la identificación de los loci o locus responsable de dicha asociación.

Métodos: Se extrajo ADN de leucocitos sangre periférica de 105 pacientes con cirrosis hepática y ascitis. Usamos ensayos Taqman SNP (Applied Biosystems) para la detección de los polimorfismos dentro del gen AQP-1. Los polimorfismos marcadores (tag-SNP) fueron seleccionados con arreglo a la distancia, el desequilibrio de ligamiento y a sus frecuencias de alelo menor (FAM) usando Haploview.

Resultados: A lo largo del segmento correspondiente al gen AQP-1 seleccionamos 3 SNPs: rs1004317 (A/G; FAM 0,32), rs17159702 (C/T; FAM 0,23) y rs1049305 (C/G; FAM 0,33); los dos primeros se ubican en intrones y el tercero en la región 3 prima no codificante (3 UTR). Sólo los dos últimos SNPs se asociaron con los niveles de sodio en plasma y la presencia de hiponatremia: rs17159702 - CC 131,9 mEq/L frente a TT 135,1 mEq/L; $p = 0,07$. $\chi^2 = 4,65$; $p = 0,031$ / / rs1049305 - CC 131,5 mEq/L frente a GG 135,9 mEq/L; $p = 0,004$. $\chi^2 = 5,83$; $p = 0,016$. El SNP rs1049305 fue el único que mostró asociación con los niveles plasmáticos de sodio en un modelo de regresión lineal ($t = 3,55$; $p = 0,01$) y el único SNP de los tres que mostró asociación ($\chi^2 = 6,65$, $p = 0,01$) con la presencia de hiponatremia severa (sodio en plasma < 130 mEq/L). No encontramos diferencias entre ninguno de los haplotipos en cuanto a clasificación Child-Pugh, puntuación

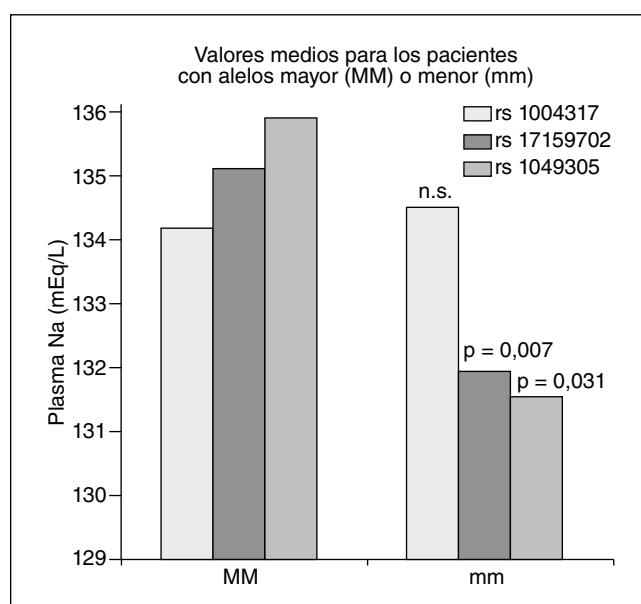


Figura 1

MELD, pulso, presión arterial, tiempo de protrombina, creatinina en suero, bilirrubina en suero y albúmina sérica.

Conclusiones: Estos resultados preliminares corroboran que polimorfismos en AQP-1 se asocian con la HD en pacientes con cirrosis hepática, y sugieren que los polimorfismos ubicados en la región 3 UTR de este gen podrían estar involucrados en la fisiopatología de la susceptibilidad genética a desarrollar HD.

P-26. EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS EN CEREBELO DE RATAS CON DERIVACIÓN PORTO-CAVA: UN ESTUDIO DIGE/MS

P. Carbonero^a, M.M. Díaz Herrero^{a,b}, V. Felip^c, M. Romero-Gómez^b y J. Bautista^a

^aDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

^bUDCED-CIBERehd. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

^cLaboratorio de Neurología. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. España.

Introducción: La expresión de proteínas en el cerebro podría estar alterada en la encefalopatía hepática (EH).

Objetivos: El objetivo de este trabajo es analizar la expresión diferencial de proteínas en cerebro de ratas con derivación porto-cava (pcs; un modelo animal de EH) utilizando técnicas de proteómica cuantitativas (DIGE/MS).

Métodos: La técnica DIGE-MS se ha llevado a cabo siguiendo el método de Arnold et al (Berendt FJ, et al. Proteomics 2009;9:550-64). Se ha utilizado el marcaje mínimo, incluyendo un pool de estándar interno, y se hicieron 6 réplicas independientes. Las imágenes de 2D-DIGE se analizaron con el programa DeCyder 2D 6.5. Las proteínas con diferencias estadísticas de expresión se han identificado mediante MS usando MALDI TOF/TOF.

Resultados: Se ha estudiado la expresión diferencial en el cerebro de ratas-pcs y ratas control (sham). Se han observado 11 spots con diferencia significativa (ratio > 2, p < 0,05), de las cuales 9 han sido identificadas mediante MS: 6 proteínas están sobre-expresadas [NADH deshidrogenasa (ubiquinona) Fe-S proteína 3, ubiquitín carboxil-terminal hidrolasa isozima, subunidad alfa de la proteína G(0), proteína 1 tipo hipocalcina, subunidad 5A de la citocromo oxidasa C, fosfoproteína p19] y 3 están infra-expresadas en ratas-pcs [proteína 2 relacionada con dihidropirimidinasa, albúmina sérica, cadena alfa de la propionil-CoA carboxilasa]. También se ha analizado la distribución metabólica de estas proteínas: estrés oxidativo, neurotransmisión, citoesqueleto, etc.

Conclusiones: Existe una expresión diferencial de proteínas en la EH (ratas-pcs) según áreas específicas del cerebro. Hemos detectado alteraciones en la expresión de proteínas mitocondriales, del citoesqueleto y funciones neuronales, que participan en procesos de fosforilación oxidativa, balance redox, homeostasis del calcio, neurotransmisión y plegamiento. Estas modificaciones podrían ser tanto post-traduccionales como inducidas por la hipamonemia.

Proyecto de excelencia de la Junta de Andalucía (P06-CTS-01887).

P-27. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON IGF-1 EN RATAS CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA POR DERIVACIÓN PORTOCAVA

M. Jover^a, I. Camacho^b, D. Díaz^a, M. García-Fernández^c, J.E. Puche^c, I. Castilla-Cortázar^c, L. Grande^a, C.M. Rodríguez-Ortigosa^e, J. Prieto^e, J.D. Bautista^d y M. Romero-Gómez^a

^aUnidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas y CIBEREHD. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

^bServicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

^cDepartamento de Fisiología Médica. Universidad de Málaga. Málaga. España.

^dDepartamento de Bioquímica. Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

^eTerapia Génica y Hepatología. Centro de Investigación en Medicina Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: El factor semejante a la insulina tipo I (IGF-1) está descendido en animales sometidos a derivación portocava y en individuos con cirrosis hepática (Caufriez et al. J Endocrinol Invest. 1991;14:317-21).

Objetivos: Estudiar el efecto del tratamiento sustitutivo con IGF-1 sobre los niveles de amonio, perfil aminoacídico y pérdida ponderal en ratas sometidas a derivación porto-cava como en pacientes con cirrosis hepática.

Material y métodos: Incluimos 24 ratas Wistar macho (250-300 g), 8 sham y 16 sometidas a derivación porto-cava (DPC). Los animales recibieron IGF-1 intraperitoneal 2 µg/kg/12 horas o vehículo. Estudiamos la diferencia de peso a lo largo del estudio y medimos el índice de Fisher (como cociente de aminoácidos ramificados y aminoácidos aromáticos, determinados por el método AccQ de Waters mediante HPLC), los niveles de amonio (método enzimático GDH, COBAS Integra, ROCHE) y óxido nítrico (ELISA, kit R&D System, Minneapolis, Mi) en plasma. Medimos los niveles de IGF-1 mediante RIA en suero (Kit Mouse/rat IGF-I DSL-2900, Diagnostic, EEUU).

Resultados: Los niveles de IGF-1 estaban descendidos a la mitad en ratas con DPC que recibieron vehículo frente a ratas sham. Se observó una correlación de los niveles de IGF-1 con la hipamonemia ($r = -0,55$; $p < 0,05$; $n = 14$), con el coeficiente de Fisher ($r = 0,59$; $p < 0,05$; $n = 13$) y con la diferencia de peso de los animales ($r = 0,61$; $p < 0,05$; $n = 14$). El tratamiento con IGF-1 previno la pérdida ponderal en las ratas con DPC, de forma que en las ratas sham el peso aumentó 81 + 39 gramos, las ratas con DPC no tratadas perdieron 19 + 54 gramos y las ratas DPC tratadas ganaron 10 + 64 gramos; ANOVA, $p = 0,001$). En cambio, no observamos ningún efecto del tratamiento con IGF-1 sobre la amonemia plasmática, cociente AAR/AAA ni óxido nítrico.

Conclusiones: El tratamiento sustitutivo con IGF-1 en ratas sometidas a derivación porto-cava previene la pérdida de peso aunque no mejora la amonemia ni el cociente AAR/AAA. Por tanto, el IGF-1 mantiene su efecto anabolizante pero no mejora la encefalopatía hepática.

PI070425 y CIBER CB06/04/0047 del ISCIII.

P-28. LA TRASLOCACIÓN BACTERIANA EN LA CIRROSIS ES UN FENÓMENO MONOMICROBIANO ASOCIADO A UNA RESPUESTA INFLAMATORIA DEPENDIENTE DE LA CONCENTRACIÓN DE ADN BACTERIANO

R. Francés, P. Zapater, P. Bellot, S. Pascual, M. Pérez-Mateo y J. Such

CIBERehd-Unidad Hepática. Hospital General Universitario. Alicante. España.

Introducción: La traslocación de ADN bacteriano (ADNbact) es un fenómeno frecuente en los pacientes con cirrosis y ascitis que está considerado como un indicador de mal pronóstico. La variabilidad de la respuesta inflamatoria asociada a su presencia y observada en estudios previos implica múltiples factores.

Objetivos: Evaluar la posibilidad de traslocación simultánea de ADNbact de más de una especie y determinar la relevancia de los diferentes factores que pueden influenciar el grado de respuesta inmunológica en estos pacientes.

Pacientes y métodos: Se incluyó de forma prospectiva a una serie de 66 pacientes con ascitis en los que se identificó la presencia de ADNbact. La identificación de especies se realizó por PCR y secuenciación del gen 16SrRNA y por PCR con cebadores específicos. Se evaluó la concentración en suero de ADNbact amplificado, endotoxina (LPS), TNF-alfa y óxido nítrico. Las variables evaluadas fueron concentración sérica de ADNbact, la hipotética presencia de ADNbact procedente de más de una especie, LPS, contenido en CGs del ADNbact detectado (específico de especie) y tinción de gram,

Resultados: todos los pacientes mostraron ADNbact de una única especie. TNF-alfa y óxido nítrico en suero mostraron una correlación significativa con los de líquido ascítico ($r = 0,64$; $p = 0,0001$ y $r = 0,90$; $p = 0,0001$, respectivamente). Los valores de TNF-alfa se correlacionaron con la concentración de ADNbact ($r = 0,88$; $p = 0,001$), con LPS ($R = 0,28$; $p = 0,025$) y con PMNs en líquido ascítico ($R = -0,27$; $p = 0,024$). TNF-alfa fue significativamente diferente entre los grupos gram-negativo y gram-positivo (416 ± 115 vs 348 ± 78 pg/mL, $p < 0,05$) pero no entre especies bacterianas individualmente ($p = 0,079$). El modelo significativo con mejor ajuste ($R^2 = 0,78$) incluyó la concentración de ADNbact, LPS y la interacción entre ambos. Los valores séricos de óxido nítrico se correlacionaron con la concentración de ADNbact ($r = 0,77$; $p = 0,001$) pero no con LPS ($R = 0,21$; $p = 0,095$). La diferencia en los valores de óxido nítrico no fue significativa entre grupos gram-negativo y gram-positivo o entre especies bacterianas individualmente. No hubo correlación entre la concentración de ADNbact y la aparición de muerte ($p = 0,8$) ni diferencias en el análisis de supervivencia (log-rank test, $p = 0,4$).

Conclusiones: en todos los pacientes de esta serie la traslocación es debida a una sola especie bacteriana. La concentración de ADNbact es el factor que predice en mayor medida la respuesta inflamatoria sérica.

P-29. DISFUNCIÓN RENAL Y ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN PACIENTES CON CIRROSIS E INFECCIONES CUTÁNEAS. RELACIÓN CON EL PRONÓSTICO

G.H. Pereira, M. Guevara, M. Marinelli, M. Martín-Llahí, E. Solá, A. Nazar, C. Fagundes, J. Fernández, V. Arroyo y P. Ginés

Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona y CIBERehd. Barcelona. España.

La insuficiencia renal y la hiponatremia son frecuentes en pacientes con cirrosis y peritonitis bacteriana espontánea. Existen pocos datos sobre la frecuencia de estas complicaciones en otras infecciones de los pacientes con cirrosis. Aunque la celulitis es una infección relativamente frecuente, no se dispone de información sobre la incidencia de insuficiencia renal e hiponatremia en esta

infección ni sobre su pronóstico. Con este objetivo se estudiaron 92 pacientes consecutivos que desarrollaron un total de 117 episodios de celulitis en un período de 6 años. Los gérmenes aislados con mayor frecuencia fueron bacterias gram positivas (68%), en especial *Staphylococcus aureus* (47%). La infección se resolvió con tratamiento antibiótico en la gran mayoría de los episodios (97%). Se observó insuficiencia renal en 23 de los 117 episodios (20%). La insuficiencia renal fue transitoria en 9 casos, estable en 10 y progresiva en 4. Treinta y cinco pacientes desarrollaron hiponatremia, que fue persistente en el 40% de los casos. En un análisis multivariado, los factores predictivos de insuficiencia renal fueron la hipotensión arterial y la existencia de hiponatremia. En 35 casos (30%) existía encefalopatía hepática en el momento del diagnóstico. La mortalidad a los 3 meses fue del 23%. En un análisis univariado, tanto la hiponatremia como la insuficiencia renal desarrollada durante el episodio de celulitis se asociaron a un mal pronóstico. Otros factores de mal pronóstico fueron la encefalopatía hepática, la infección nosocomial y la hipotensión arterial. En un análisis multivariado, la puntuación MELD-sodio y la existencia de encefalopatía hepática fueron factores predictivos de mortalidad a los 3 meses. En conclusión, la celulitis en pacientes con cirrosis se asocia a una elevada frecuencia de insuficiencia renal, hiponatremia y encefalopatía hepática, que contribuyen a una mortalidad elevada a corto plazo. La puntuación de MELD-sodio y la presencia de encefalopatía hepática son útiles para predecir el pronóstico en estos pacientes.

P-30. ALTERACIONES DE ACETILCOLINESTERASA EN EL HIPOCAMPO Y EN EL TÁLAMO EN RATAS CIRRÓTICAS CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA DE TIPO C

M.A. Aller^a, M. Méndez^b, M. Méndez-López^b, L. López^b, J. Arias^a y J.L. Arias^b

^aDepartamento de Cirugía I. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

^bUnidad de Neurociencias. Facultad de Psicología. Universidad de Oviedo. Asturias. España.

Introducción: Los pacientes cirróticos sufren frecuentemente Encefalopatía Hepática (EH), una complicación neurológica que cursa con alteraciones neuropsiquiátricas, como un deterioro cognitivo y de la atención.

Objetivos: Comprobar si el déficit cognitivo que se produce en la cirrosis es secundario a un trastorno del metabolismo de acetilcolinesterasa (AChE), un enzima periférico unido a membrana, que hidroliza la acetilcolina liberada desde los terminales presinápticos, lo cual en último término, alteraría la neurotransmisión de acetilcolina.

Métodos: Se han utilizado 16 ratas macho Wistar de dos meses de edad: un grupo ($n = 8$) de ratas cirróticas tras la administración de Tioacetamida (TAA) en el agua de bebida durante 12 semanas y un grupo control (CO) ($n = 8$) que fue aislado en las mismas condiciones, pero que ingirió agua normal. Las ratas fueron decapitadas, se extrajeron los cerebros, que fueron congelados inmediatamente y se obtuvieron secciones coronales. La determinación histoquímica de AChE se realizó en diversas áreas del sistema límbico cerebral: Accumbens core (AcC) y Accumbens shell (AcS), núcleo talámico anterodorsal (TAD), núcleo talámico anteroventral (TAV) y núcleo talámico anteromedial (TAM), en el hipocampo (CA1, CA3 y giro dentado; DG) y en el córtex entorinal (EntC). La cuantificación de la tinción histoquímica de AChE fue realizada mediante un análisis densitométrico utilizando un sistema de análisis de imagen asistido por ordenador.

Resultados: Los niveles de densidad óptica de AChE en ratas cirróticas con TAA fue inferior que en las ratas control en todas las subáreas estudiadas del hipocampo, CA1 ($p < 0,001$), CA3 ($p < 0,05$)

y DG ($p = 0,005$). Por el contrario, en las ratas cirróticas los niveles de AChE fueron superiores ($p < 0,005$) que en las ratas control en los núcleos talámicos TAD y TAV, así como en el AcC y AcS ($p < 0,001$). Además, las concentraciones de AChE en las ratas cirróticas aumentaron ($p < 0,05$) en el área EntC respecto de los animales control.

Conclusiones: Éstos resultados sugieren que la EH experimental de tipo C comporta una disfunción de la función colinérgica en regiones del sistema límbico cerebral implicadas en los procesos de atención y aprendizaje. Por lo tanto, sería interesante realizar futuros estudios para comprender el papel que desempeña la neurotransmisión de acetilcolina en los déficits cognitivos de la EH asociada a la cirrosis.

P-31. FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE UNA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA SECUNDARIA A UN GERMIN RESISTENTE A LA CEFOTAXIMA

J. Castellote, X. Ariza, A. Girbau, T. Broquetas, T. Lobatón, S. Salord, R. Rota y X. Xiol

Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. España.

Introducción: El desarrollo de episodios de peritonitis bacteriana espontánea (PBE) resistentes a cefotaxima (CTX) ha aumentado en los últimos años. Esto comporta un aumento de la mortalidad.

Métodos y objetivos: Determinar los factores de riesgo para el desarrollo de una peritonitis bacteriana espontánea (PBE) por un germin resistente a la cefotaxima (CTX). Hemos estudiado retrospectivamente 220 episodios de PBE diagnosticados en los últimos 8 años. Se identificó el germin causal en 131 episodios (59,5%). En 31 (23,6%) episodios, el germin aislado fue resistente a la CTX. Hemos recogido variables demográficas, analíticas, microbiológicas y clínicas. Se ha practicado un estudio de regresión logística múltiple para determinar aquellas variables con valor predictivo independiente.

Resultados: La presión arterial media, las proteínas y el recuento de PMN en líquido ascítico en el momento de la infección, la presencia de HDA previa, el uso de antibióticos en los tres meses anteriores al episodio infeccioso, la profilaxis con norfloxacino, la presencia de diabetes y los episodios intrahospitalarios se asociaron con gérmens resistentes a la CTX. El análisis multivariante identificó al uso de antibióticos en los tres meses anteriores al ingreso (RR, IC95%; p) (5,98; 3,58-9,97; 0,000), la presencia de diabetes (3,624; 2,08-6,30; 0,02) y a los episodios intrahospitalarios (2,81; 1,75-4,51, 0,02) como factores con valor predictivo independiente. Hemos desarrollado un score sencillo que permite dividir a los episodios de PBE en tres grupos de riesgo: bajo, medio y alto con unas tasas de resistencia a la CTX del 7,7%, 22% y 57% respectivamente.

Conclusiones: 1. El uso de antibióticos en los tres meses previos al episodio de PBE, la presencia de diabetes y los episodios intrahospitalarios son factores de riesgo para el desarrollo de PBE por gérmens resistentes a la CTX. 2. Hemos elaborado un score sencillo que permite clasificar a los episodios de PBE en tres grupos de riesgo para resistencia a la cefotaxima.

P-32. LA HIPERAMONEMIA AUMENTA EL TONO GABAÉRGICO EN CEREBELO PERO LO DISMINUYE EN CORTEZA CEREBRAL. PAPEL EN EL DETERIORO COGNITIVO EN ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

O. Cauli, A. Agustí y V. Felipo

Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. España.

Introducción: Se ha propuesto que un aumento del tono GABAérgico debido a la hiperamonemia está implicado en la patogénesis de la encefalopatía hepática (EH). Sin embargo, ningún estudio ha

analizado si el tono GABAérgico está aumentado o no realmente en cerebro in vivo.

Objetivos: Analizar, en ratas con hiperamonemia, si el tono GABAérgico está aumentado en cerebro in vivo y si cambios en el tono GABAérgico contribuyen al deterioro cognitivo en EH. La activación del receptor NMDA aumenta la formación de óxido nítrico y de GMPc. La activación de esta vía glutamato-óxido nítrico-GMPc es necesaria para algunas formas de aprendizaje y memoria. La activación del receptor GABA_A disminuye la función de esta vía. Si la hiperamonemia aumenta el tono GABAérgico debe disminuir la función de la vía y ésta debe recuperarse bloqueando el receptor GABA_A. Ya mostramos que la función de la vía está disminuida en cerebro en modelos de EH y de hiperamonemia. Hemos estudiado ahora si esto es debido a un aumento del tono GABAérgico, los mecanismos por los que la hiperamonemia altera el tono GABAérgico y si la alteración del tono GABAérgico es la causa del deterioro cognitivo.

Métodos: Analizamos la función de la vía glutamato-óxido nítrico-GMPc en cerebro y corteza por microdialisis in vivo. Activamos los receptores GABA_A con muscimol o los bloqueamos con bicuculina. Analizamos la capacidad de aprendizaje realizando tests en un laberinto en Y.

Resultados: La hiperamonemia aumenta el tono GABAérgico en cerebro y lo disminuye en corteza. El aumento del tono GABAérgico en cerebro es debido a aumentos en 1) GABA extracelular; 2) THDOC, un neuroesteroide que aumenta la activación del receptor GABA_A, y 3) el contenido de las subunidades $\alpha 1$, $\alpha 6$ y $\gamma 2$ del receptor GABA_A. La disminución del tono GABAérgico en corteza es debido a una disminución de las subunidades α y $\gamma 2$ del receptor GABA_A y un aumento de pregnanolona, que reduce selectivamente la activación de los receptores GABA_A conteniendo la subunidad $\alpha 4$ muy abundante en corteza y ausente en cerebro. El tratamiento con bicuculina normaliza el tono GABAérgico en cerebro y recupera la función de la vía y la capacidad de aprendizaje en ratas con hiperamonemia y EH.

Conclusiones: El aumento del tono GABAérgico en cerebro contribuye al deterioro cognitivo en hiperamonemia y EH. El bloqueo de los receptores GABA_A en condiciones adecuadas restaura la capacidad cognitiva.

P-33. UTILIDAD DE LA RIFAXIMINA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA: ANÁLISIS INTERMEDIO

L. Grande, M. Jover, M. Fobelo, B. Figueruela, M.J. Jiménez, I. Camacho, A. Pérez, M. Maraver, R. Aparcero, A. Fernández Palacín, C. Almeida, E. Suárez y M. Romero Gómez

Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas y CIBEREHD. Unidad de Gestión de Farmacología. Unidad de Gestión de Bioquímica. Unidad de Estadística. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

Objetivos: Análisis intermedio para valorar la eficacia terapéutica de la rifaximina frente a placebo en los pacientes con EHM.

Pacientes y método: En un estudio doble ciego, cruzado y aleatorizado utilizando Rifaximina frente a placebo, incluimos 17 pacientes con cirrosis hepática y EHM valorada mediante test psicométricos seguidos en la consulta externa de hepatología, 14 hombres (82,4%) y 3 mujeres (17,6%), con edad media de 58 + 9 años, etiología alcohólica 12 (70,6%), virus C 4 (23,5%), y otros 1 (5,9%). Los pacientes serán aleatorizados en dos grupos: (T1) inicialmente un grupo recibirá rifaximina (1.200 mg/día) comprimidos de 200 mg, 2 comp/8h durante 4 semanas y otro grupo (T2) placebo, 2 comp/8h durante 4 semanas. Posteriormente el grupo de rifaximina recibirá placebo (T3) y el de placebo rifaximina (T4) durante otras 4 semanas con un periodo de lavado de 4 semanas entre ambos. Analizamos la función hepática, la prueba de la sobrecarga oral de glutamina (SOG), EHM, frecuencia crítica del parpadeo y

medimos la insulinenia (ECLIA) y resistencia a la insulina mediante HOMA = Insulina (mUI/ml) × glucosa (mmol/L)/22,5 antes y después de cada tratamiento.

Resultados: Los pacientes en el grupo T1 presentaron una mejoría estadísticamente significativa en el área bajo la curva de glutamina respecto al grupo T2 (-52,3 ± 53 vs -5,62 ± 10,56; p = 0,045) y un aumento en el grupo T4 (74 ± 45,6 vs 13 ± 37,19). La puntuación PHES utilizada en el diagnóstico de la EHM se deterioró significativamente en el grupo T4 frente al T3 (2 ± 1,75 vs -1 ± 1,15; p = 0,05) así como un mejoría en el grupo T2 frente a T1 pero sin alcanzar significación (3,5 ± 3,87 vs 1,75 ± 1,5; p = 0,43).

Conclusiones: En uno de los brazos se observa una mejoría de los test psicométricos y del área bajo la curva de la sobrecarga oral de glutamina en las cuatro primeras semanas de tratamiento, que posteriormente se reproduce aunque con menor intensidad en la segunda parte del estudio.

P-34. LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA AUMENTA EL RIESGO DE CAÍDAS EN LOS PACIENTES CIRRÓTICOS

E. Román^{a,b}, G. Soriano^{a,b}, M. Torrens^c, J. Córdoba^{a,c}, C. Villanueva^{a,b}, X. Torras^{a,b}, V. Vargas^{a,c} y C. Guarner^{a,b}

^aCIBERehd.

^bServicio de Patología Digestiva. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

^cServicio de Medicina Interna. Unidad de Hepatología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: La encefalopatía hepática mínima (EHM) aumenta el riesgo de accidentes de tráfico y deteriora la calidad de vida en los pacientes cirróticos. Sin embargo, no se ha estudiado la relación entre la EHM y el riesgo de caídas accidentales, que pueden ser causa de complicaciones y mortalidad en estos pacientes.

Objetivos: Analizar si las caídas accidentales son más frecuentes en los pacientes cirróticos con EHM respecto a aquellos sin EHM.

Métodos: Se han incluido 104 pacientes cirróticos ambulatorios del 01/03/2008 al 31/10/2009. Se recogieron datos clínicos y analíticos y el tratamiento farmacológico. Para el estudio de EHM se utilizó el Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (PHES) (diagnóstico de EHM: PHES < -4) y la frecuencia crítica de parpadeo (CFF) y se evaluó la calidad de vida mediante el test SF-36. Se registró el número de caídas en el año previo y se analizó la severidad de las lesiones y la necesidad de atención sanitaria.

Resultados: Treinta y siete (35,5%) de los 104 pacientes presentaron EHM. La incidencia de caídas en el año previo al estudio fue de 13/37 (35,1%) en pacientes con EHM y 6/67 (8,9%) en pacientes sin EHM (p = 0,001). La media de caídas por paciente fue 0,62 ± 1,06 vs 0,09 ± 0,28, respectivamente (p = 0,005). No hubo diferencias entre los dos grupos en la severidad de las lesiones. Los pacientes con EHM precisaron mayor atención sanitaria en atención primaria (13,5% vs 0%, p = 0,005) y hospitalización (8,1% vs 2,9%, pNS) por caídas. La EHM mostró una mayor asociación con las caídas en los pacientes que tomaban psicofármacos (n = 19), ya que en este subgrupo 6/8 pacientes (75%) con EHM presentaron caídas vs 2/11 pacientes (18,1%) sin EHM (p = 0,02). En los pacientes sin tratamiento con psicofármacos (n = 85), la incidencia de caídas fue de 7/29 (24%) en pacientes con EHM vs 4/56 (7,1%) en pacientes sin EHM (p = 0,04). La calidad de vida fue peor en los pacientes con EHM (p < 0,005 respecto a pacientes sin EHM) y en aquellos con antecedente de caídas (p < 0,05 respecto a pacientes sin caídas).

Conclusiones: Las caídas accidentales son más frecuentes en los pacientes cirróticos que presentan EHM, especialmente si están en tratamiento con psicofármacos. Las caídas son una causa frecuente de atención sanitaria y hospitalización en los pacientes con EHM. La EHM y las caídas están asociadas a una peor calidad de vida en los pacientes cirróticos.

P-35. LA SECRECIÓN BILIAR DE S-NITROSOGLUTATIÓN ESTÁ IMPLICADA EN LA HIPERCOLERESIS INDUCIDA POR ÁCIDO URSODESOXICÓLICO

C.M. Rodríguez-Ortigosa^{a,b}, J.M. Bañales^{a,b}, I. Olivas^a, I. Uriarte^{a,b}, F.J. Corrales^a, J.F. Medina^{a,b} y J. Prieto^{a,c}

^aCIMA-Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^bCIBERehd CIMA-Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^cCIBERehd Clínica de la Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: El ácido ursodesoxicólico (AUDC) induce una hipercoleresis rica en bicarbonato que, de acuerdo a datos recientes, es mediada parcialmente por ATP producido por colangiocitos. Por otro lado, el óxido nítrico (NO), a concentraciones bajas o fisiológicas, es capaz de estimular procesos secretores.

Objetivos: Investigar si el AUDC podría promover la secreción biliar de derivados de NO y si estos compuestos podrían participar en la hipercoleresis inducida por AUDC y en la liberación de ATP.

Métodos: Se evaluó la secreción biliar de derivados de NO en el modelo experimental de hígado de rata perfundido *in situ* (isPRL) y la inhibición de la síntesis de NO en el modelo de hígado de rata aislado y perfundido (IPRL). La implicación del glutatión en la secreción biliar de derivados de NO inducida por AUDC fue confirmada mediante estudios de isPRL en ratas mutantes para el transportador canalicular ABCC2/Mrp2 (ratas TR?), y en ratas normales deplecionadas de glutatión mediante butionina-sulfoximina (BSO). Los derivados de NO presentes en bilis fueron identificados por espectrometría de masas. En colangiocitos de rata aislados y cultivados se cuantificó la secreción de ATP y, mediante western blot, las vías de señalización implicadas en la acción del AUDC; además se evaluó el efecto antiapoptótico de derivados de NO en la apoptosis inducida por beauvericina.

Resultados: La infusión de AUDC en isPRL incrementó significativamente la secreción biliar de derivados de NO, la expresión hepática de iNOS y la actividad NOS total en el hígado. AUDC también estimuló la liberación de NO en hepatocitos de rata. Tras la administración de AUDC, el NO biliar se encontró fundamentalmente en forma de nitrosotioles de bajo peso molecular, de los cuales el S-nitrosoglutatión (GSNO) es la especie predominante. La secreción biliar de NO fue abolida por inhibición de iNOS (en IPRL) y también mediante depleción con BSO del glutatión hepático. La infusión de AUDC en ratas TR- produjo una secreción de derivados de NO significativamente menor a la observada en ratas sanas, hallazgo consistente con la hipótesis de que el transportador de glutatión ABCC2/Mrp2 tiene un papel en el transporte de GSNO. En colangiocitos de rata, GSNO activó la vía de Akt, redujo significativamente la apoptosis inducida por beauvericina y estimuló significativamente la liberación de ATP producida por AUDC, efecto que fue bloqueado por inhibición de PI3-K. Por último, la infusión retrógrada de GSNO en el conducto biliar de la rata incrementó significativamente el flujo biliar y la secreción biliar de bicarbonato.

Conclusiones: AUDC induce la secreción biliar de GSNO lo que contribuye a estimular la secreción ductal.

P-36. SIGNIFICADO CLÍNICO DE LOS ANTICUERPOS ANTI-RO52 EN 609 CASOS CON CIRROSIS BILIAR PRIMARIA DE ESPAÑA, REINO UNIDO Y GRECIA

M.G. Mytilinaiou, E. Spyrou, L. Caballería, I.E. Rigopoulou, G.N. Dalekos, D. Vergani, D.P. Bogdanos y A. Parés

King's College Hospital. Londres. Reino Unido.

Department of Medicine. University of Thessaly y Centre for Research. Larissa. Grecia.

Unidad de Hepatología. CIBERehd. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: Un estudio reciente sugiere que los anticuerpos anti-Ro52 que presentan los pacientes con síndrome de Sjögren (SS), también están presentes en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP) y que se asocian con una enfermedad más avanzada. Por este motivo se ha investigado la prevalencia y el significado clínico de estos anticuerpos en una amplia cohorte de pacientes con CBP de tres países europeos.

Pacientes y métodos: 609 pacientes con CBP de Reino Unido (n = 293), España (n = 223) y Grecia (n = 93) con una mediana de edad de 49 años (intervalo 23-86) y un grupo control de 31 pacientes con SS sin CBP. Los anticuerpos anti-Ro52 se detectaron por ELISA (INOVA Diagnostics) y se confirmaron por inmunoensayo (EUROIMMUN) y un ELISA de diseño propio basado en el antígeno Ro52 humano expresado de forma recombinante en *E. coli*. También se detectó la presencia de anti-Ro60, típico de SS mediante ELISA, así como los autoanticuerpos convencionales mediante inmunofluorescencia indirecta.

Resultados: Se hallaron Anti-Ro52 en 127 (43%) pacientes británicos, 91 (41%) pacientes españoles y 33 (35%) pacientes griegos. De los 123 pacientes de quienes se disponía de muestras secuenciales (n = 532) con una mediana de seguimiento de 5 años (2-12 años), 67 (55%) resultaron ser persistentemente anti-Ro52 negativo, 40 (32%) fueron persistentemente anti-Ro52 positivos y 16 (13%) desarrollaron anticuerpos Ro52 tras el primer resultado negativo. Los pacientes con Anti-Ro52 tenían niveles inferiores de albúmina ($2,7 \pm 0,3$ vs $3,3 \pm 0,3$ g/L, $p = 0,04$) y una tendencia a menor tiempo de protrombina y mayores niveles de IgG ($p = 0,06$ y $0,07$, respectivamente) en comparación con los casos seronegativos. Los demás indicadores clínicos, bioquímicos, e histológicos no fueron diferentes entre los dos grupos. En el grupo control con SS y anti-Ro60 se observó reactividad anti-Ro52 en 20 casos (64,1%), pero la correactividad anti-Ro60 y anti-Ro52 sólo se detectó en el 12,1% de los 107 pacientes con CBP evaluados.

Conclusiones: Los anticuerpos anticuerpos anti-Ro52 se detectan en una elevada proporción de pacientes con CBP (35-43%), con prevalencias comparables en diferentes áreas geográficas, y se asocian con una peor función hepática. Su significado pronóstico debe ser estudiado en estudios prospectivos. El antígeno causante de la aparición de los anticuerpos Ro52 es desconocido y probablemente distinto al responsable de su presencia en el síndrome de Sjögren.

P-37. EL MRP3 (ABCC3) DESEMPEÑA UN PAPEL CRÍTICO EN LA REGULACIÓN DE LA CIRCULACIÓN ENTEROHEPÁTICA DE SALES BILIARES

M. García^a, M.A. Ávila^b, K. van de Wetering^e, C.M. Rodríguez^{b,c}, M.J. Monte^d, J.J.G. Marín^d y J. Prieto^{a,b}

^aCIBERehd. Clínica de la Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^bCIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^cCIBERehd. CIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^dCIBERehd. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^eDivision of Molecular Biology. The Netherlands Cancer Institute. Amsterdam. Holanda.

Introducción: Mrp3 (Multidrug Resistance-associated Protein 3; ABCC3) pertenece a una familia de transportadores de membrana que interviene en el transporte dependiente de ATP de compuestos como aniones orgánicos, ácidos biliares o compuestos conjugados con glutatión, sulfato o ácido glucurónico. Mrp3 se localiza en la membrana basolateral de células epiteliales de hígado e intestino estando implicado en el vertido de los mencionados substratos al torrente sanguíneo. La función de Mrp3 en el metabolismo y cinética de las sales biliares no está bien definida. En el presente trabajo analizamos el papel de Mrp3 en la regulación de la circulación enterohepática de sales biliares.

Material y métodos: Hemos utilizado ratones nulos (KO) para Mrp3 y sus correspondientes ratones wild type (WT) los cuales fue-

ron sometidos a una dieta suplementada con ácido cílico al 0,1% durante cinco días. Otros dos grupos de ratones WT y KO Mrp3 recibieron dieta estándar (Harland Teklad). Se extrajo mRNA de hígado e íleon en todos los grupos y se estudió mediante PCR a tiempo real la expresión de genes modulados por sales biliares que intervienen en el ciclo enterohepático. Se estudió también el contenido de ácidos biliares intrahepáticos en muestras basales de ratones WT y KO Mrp3 mediante LC-MS/MS.

Resultados: Los niveles de expresión de Mrp3 de los ratones WT sometidos a la dieta enriquecida con ácido cílico mostraron, tanto en hígado como en íleon, niveles de expresión significativamente superiores a aquellos alimentados con dieta control. Ya que estos datos indicaban que los niveles de Mrp3 son regulados por sales biliares se determinó tanto en WT como en Mrp3 KO la expresión en hígado y en íleon de diferentes genes implicados en la homeostasis de sales biliares tras una dieta rica en colato. Se observó que tras la sobrecarga de colato la expresión hepática de Cyp7a1 disminuía en WT mientras que en Mrp3 KO esta disminución era significativamente menor. Además, mientras que los WT mostraban una marca sobrepresión de Cyp3a11 y SHP tras la administración de colato la inducción de estos genes era significativamente inferior en Mrp3KO. Interesantemente también se observó que la dieta rica en colato producía una sobreexpresión en íleon de los transportadores Ost α , Ost β y del receptor SHP en los WT mientras que estos genes no se inducen por la sobredosis de colato en los Mrp3 KO. Asimismo, la cuantificación en íleon de los niveles de expresión del transportador ASBT mostró un descenso significativo en condiciones basales en los Mrp3 KO en comparación con WT. En concordancia con estos hallazgos la concentración intrahepática de sales biliares fue inferior en Mrp3 KO que en WT.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que el transportador basolateral Mrp3 juega un papel central en la regulación la circulación enterohepática y pool de sales biliares.

P-38. LA PRESENCIA DE ASCITIS INFRAVALORA LA MEDICIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN ESQUELETO AXIAL. IMPLICACIONES EN EL DIAGNÓSTICO DE OSTEOPOROSIS EN LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA

N. Guañabens, R. Reyes, A. Martínez-Ferrer, A. Monegal, A. Muxí, J. Caballería, P. Peris, F. Pons y A. Parés

Unidades de Patología Metabólica Ósea y de Hepatología.

Hospital Clínic. CIBERhhd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción: Se ha sugerido que la presencia de ascitis podría artefactuar el valor de densidad mineral ósea (DMO), un procedimiento clave para el diagnóstico de osteoporosis que es una complicación frecuente de los pacientes cirróticos en fases avanzadas y en lista de espera de trasplante. Hay muy pocos estudios que hayan evaluado este aspecto, y la presencia de osteopenia o osteoporosis en los pacientes cirróticos en lista de espera de trasplante tiene implicaciones terapéuticas y de prevención de posibles fracturas postrasplante.

Objetivos: Evaluar si la presencia de ascitis modifica el valor de DMO en esqueleto axial y si la variación se relaciona con la cantidad de líquido y/o con el cambio de peso o del perímetro abdominal.

Pacientes y métodos: Se incluyeron de forma consecutiva 20 pacientes (14V/6M; $64,8 \pm 11,6$ años) afectos de cirrosis hepática (11 virus hepatitis C, 1 virus hepatitis B, 6 alcohólica, 2 otros) con ascitis. Se determinó la DMO en columna lumbar, cuello de fémur y fémur total (DXA), el perímetro abdominal, el peso, el índice de masa corporal (IMC) y la distancia entre el abdomen y el brazo detector del densitómetro, inmediatamente antes y después de una

paracentesis evacuadora. Además, se midió el volumen y se analizaron las características del líquido ascítico extraído.

Resultados: Tras la paracentesis evacuadora, la DMO aumentó de forma significativa en columna lumbar ($0,931 \pm 0,18$ a $0,977 \pm 0,12$ g/cm², $p = 0,002$) y fémur total ($0,874 \pm 0,19$ a $0,893 \pm 0,18$ g/cm², $p = 0,009$), sin cambios en cuello de fémur. La escala-T pasó de $-2,3 \pm 1,5$ a $-1,9 \pm 1,6$ en columna lumbar y de $-1,6 \pm 1,4$ a $-1,4 \pm 1,3$ en fémur total. La cantidad de líquido ascítico extraído fue de 3,0 a 12,7 litros (media: $6,6 \pm 2,7$), el perímetro abdominal disminuyó de 109 ± 11 a $99,2 \pm 7,9$ cm, el peso de $71,4 \pm 11,5$ a $64,1 \pm 10,7$ kg y el IMC de 27 ± 3 a $24,5 \pm 2,8$. La distancia abdomen-detector aumentó de $14,1 \pm 2,7$ a $19,1 \pm 2,6$ cm. No se observaron asociaciones entre los cambios de DMO y los demás parámetros analizados.

Conclusiones: La presencia de ascitis artefactúa las mediciones de DMO en esqueleto axial. Se debe considerar este aspecto al evaluar la DMO en hepatópatas con ascitis, pues presentan unos valores de densidad ósea en columna lumbar y fémur total inferiores a los que les correspondería. Estos resultados tienen notables implicaciones en el diagnóstico de osteoporosis en los pacientes cirróticos con ascitis.

P-39. CARACTERIZACIÓN DE PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS CAPTURADAS POR EL MARS EN PACIENTES CON COLESTASIS Y PRURITO REFRACTARIO

M. Gay, M. Carrascal, M. Gorga, A. Mas, J. Abián y A. Parés

CSIC/UAB Laboratorio de Proteómica. IIBB-CSIC. Universidad Autónoma de Barcelona. Unidad de Hepatología. CIBERehd. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

La diálisis con albúmina usando el sistema MARS (Molecular Adsorbent Recirculating System) es una nueva aproximación terapéutica para las enfermedades de hígado. Más allá de los efectos clínicos, este procedimiento tiene el potencial de permitir el análisis de moléculas eliminadas por la diálisis con albúmina, que puede estar implicada en la fisiopatología de las enfermedades de hígado. En este estudio analizamos los péptidos y proteínas absorbidos en el cartucho de intercambio aniónico (SAX) del MARS, después de tratamiento con MARS. Se ha evaluado mediante shotgun proteomics, los péptidos y proteínas absorbidos en el cartucho SAX del MARS después del tratamiento de pacientes con colestasis y prurito refractario. Debido a que la albúmina comercial usada en la diálisis ya contiene otras proteínas residuales, se preparó una muestra control recirculando albúmina al 20% a través de un cartucho SAX del MARS durante seis horas. Los extractos procedentes del control y de los pacientes se dirigieron con dos enzimas distintas (tripsina y GluC) y los péptidos resultantes se analizaron por cromatografía líquida multidimensional acoplada a espectrometría de masas en tandem (MDLC-MS/MS). Los espectros de fragmentación se buscaron usando el motor de búsqueda SEQUEST frente a la base de datos UniProt humana y su copia reversa. Las proteínas identificadas se validaron posteriormente mediante western blot. En estas muestras se han identificado más de 1500 secuencias de péptidos correspondientes a 144 proteínas. Esta colección incluye 60 proteínas que se han detectado sólo en las muestras derivadas de los pacientes y no se encuentran en los extractos de la albúmina control. La caracterización de cinco de estas proteínas (Neutrophil defensin, Secreted Ly-6/uPAR-related protein 1, Serum amyloid A, Fibrinogen alpha chain y Pancreatic prohormone), como proteínas capturadas por el procedimiento de diálisis, se ha confirmado por monitorización de reacción múltiple MS/MS. Las proteínas Neutrophil defensin y Secreted Ly-6/uPAR-related protein 1 se detectaron y confirmaron por western blot. En conclusión, en pacientes con colestasis y prurito refractario tratados con diálisis de albúmina, se han identi-

ficado proteínas que son eliminadas de la sangre de los pacientes y absorbidas a los cartuchos de SAX. Además, se ha documentado que la solución de albúmina humana comercial contiene otros péptidos y proteínas además de la albúmina.

P-40. EXPRESIÓN CANALICULAR DE MDR3 Y ANÁLISIS MUTACIONAL DEL GEN ABCB4 EN NIÑOS CON COLESTASIS COMPATIBLE CON DEFECTO DE MDR3

L. Álvarez, P. Martínez-Fernández, S. Andueza, L. Hierro, G. Muñoz-Bartolo, M.C. Díaz, C. Camarena, A. de la Vega, E. Frauca, M.D. Lledín y P. Jara

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

Introducción: La proteína MDR3 es un flipasa canalicular implicada en la secreción de fosfatidilcolina a la bilis. Mutaciones en homozigosis o heterozigosis en el gen que la codifica (ABCB4), predisponen al desarrollo de litiasis, colestasis gestacional, colangitis esclerosante y cirrosis biliar, en adultos; en niños, dan lugar a un tipo de colestasis intrahepática progresiva, con GGT elevada, que en algunos casos responde a tratamiento con URSO. En las series descritas de niños con sospecha clínica de defecto de MDR3, se han confirmado mutaciones en ABCB4 en el 17-55% de casos.

Objetivos: Explorar la posibilidad de un defecto de MDR3 en una cohorte de niños con clínica semejante al espectro descrito.

Pacientes y métodos: Estudio de 38 niños con hepatopatía sugerente de defecto de MDR3. Padecían colestasis de inicio neonatal, con evolución cirrótica ($n = 10$) o sin evolución cirrótica ($n = 5$); colestasis neonatal filiada pero con evolución atípica ($n = 7$); hepatopatía crónica idiopática de lactante mayor o niño ($n = 8$), o patología vesicular con disfunción hepática ($n = 8$). La presencia de mutaciones puntuales en el gen ABCB4 se analizó por secuenciación del DNA. La posible delección de exones se evaluó por la técnica de MLPA. La expresión canalicular de MDR3, BSEP y MRP2 se analizó mediante inmunohistoquímica en biopsias hepáticas.

Resultados: Se detectaron mutaciones puntuales en el gen ABCB4 en el 19% de los casos analizados (6/32; sólo un caso de mutación bialélica, en heterozigosis compuesta). En ninguno de los pacientes se observaron delecciones en heterozigosis en regiones exónicas. La expresión de las proteínas canaliculares BSEP y MRP2 fue normal en todas las biopsias hepáticas analizadas. En 9 de los 25 casos estudiados (36%), se evidenció ausencia o disminución de expresión canalicular de MDR3: en 3 de 4 casos (75%) se confirmó la mutación de ABCB4, y en 4 de 15 niños (27%) no se detectaron mutaciones. En dos hermanos afectados se observaron polimorfismos genéticos diferentes en ABCB4, demostrando ausencia de ligamiento para este gen.

Conclusiones: Solamente en un 19% de niños con clínica sugerente de defecto de MDR3 se detectó mutación en el gen ABCB4, y en su mayoría en un único alelo. La mayor frecuencia de expresión anómala de MDR3 y el patrón de segregación alélica identificado en hermanos afectados sugieren la existencia de otros mecanismos que alteren MDR3 u otros defectos génicos que causen un fenotipo de enfermedad parecido.

P-41. IDENTIFICACIÓN DE UNA FORMA ASINTOMÁTICA DE CIRROSIS BILIAR PRIMARIA DE CURSO MUY BENIGNO

Grupo Español de Colestasis Crónica

CIBERehd. Unidad de Hepatología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Antecedentes y objetivos: La cirrosis biliar primaria (CBP) asintomática es cada vez más prevalente en las series recientes, pero la historia natural, pronóstico y curso de esta presentación no está

completamente definida. Por ello, en el presente estudio se ha analizado una cohorte de pacientes con CBP de 17 hospitales españoles para conocer la forma de presentación, historia natural y curso de la enfermedad.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 1.058 pacientes (92% mujeres, edad media: $53,1 \pm 0,4$ años), diagnosticados entre 1971 y 2006 (media de seguimiento $8,1 \pm 0,2$ años). Se han estudiado las características clínicas, analíticas y el estadio histológico en el momento del diagnóstico, y la aparición de síntomas y manifestaciones indicativas de progresión de la enfermedad, así como si los pacientes fallecieron o fueron trasplantados. Los pacientes se dividieron en sintomáticos y asintomáticos según la presencia de síntomas en el momento del diagnóstico. Asimismo, en los pacientes asintomáticos se distinguió entre los que permanecieron libres de síntomas y los que desarrollaron síntomas en el curso del seguimiento.

Resultados: 651 pacientes (62%) eran asintomáticos en el momento del diagnóstico. No hubo diferencias entre los pacientes sintomáticos y asintomáticos con respecto al sexo, presencia de anticuerpos antinucleares y antimitocondriales, pero los pacientes asintomáticos tenían mayor edad, menor gravedad de la enfermedad y mayor supervivencia libre de trasplante. La mayoría de los pacientes fueron tratados con ácido ursodeoxicólico. De los pacientes inicialmente asintomáticos, el 71% permaneció libre de síntomas, y 191 desarrollaron síntomas durante el seguimiento. La supervivencia libre de trasplante a los 20 años del diagnóstico fue del 87% en los pacientes que permanecieron libres de síntomas, pero disminuyó en los pacientes que desarrollan síntomas (56%, $p < 0,001$), con una supervivencia mejor que la observada en los pacientes sintomáticos (46%). Los pacientes que permanecieron libres de síntomas eran mayores, tenían menores niveles de bilirrubina, fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa y estadio histológico, y mayores niveles de albúmina, hemoglobina y plaquetas que los pacientes que desarrollaron síntomas ($p < 0,01$). El análisis multi-

variado detectó como indicadores de permanecer asintomáticos durante el seguimiento uno fosfatasa alcalina basal > 560 U/L, una albúmina > 40 g/L, una hemoglobina > 13 g/L y una edad > 53 años.

Conclusiones: Los pacientes asintomáticos tienen un curso diferente, ya que la mayoría de los pacientes permanecen libres de síntomas durante el seguimiento y tienen una excelente probabilidad de supervivencia. Estos pacientes tienen mayor edad y una enfermedad más leve en el momento del diagnóstico, que identifican una forma extremadamente benigna de cirrosis biliar en pacientes tratados con ácido ursodeoxicólico.

P-42. LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÓXIDO NÍTRICO DURANTE LA COLESTASIS INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE REDUCE LA LESIÓN HEPATOCELULAR AL FACILITAR LA HOMEOSTASIS DE NITROSOTIOLES

L.M. López-Sánchez^a, F.J. Corrales^b, M. Barcos^c, I. Espejo^c, J.R. Muñoz-Castañeda^a y A. Rodríguez-Ariza^a

^aHospital Universitario Reina Sofía. Unidad de Investigación. IMIBIC. Córdoba. España.

^bUniversidad de Navarra. Hepatology and Gene Therapy Unit. Pamplona. España.

^cHospital Universitario Reina Sofía. Servicio de Análisis Clínicos. Córdoba. España.

Introducción: Las intervenciones que faciliten el metabolismo del óxido nítrico (NO) en etapas colestásicas tempranas pueden ayudar a mantener el estado redox de las proteínas hepáticas. Además, escasos estudios han explorado la participación de la S-nitrosilación de proteínas y el metabolismo de nitrosotioles (SNO) en la lesión hepatocelular por colestasis.

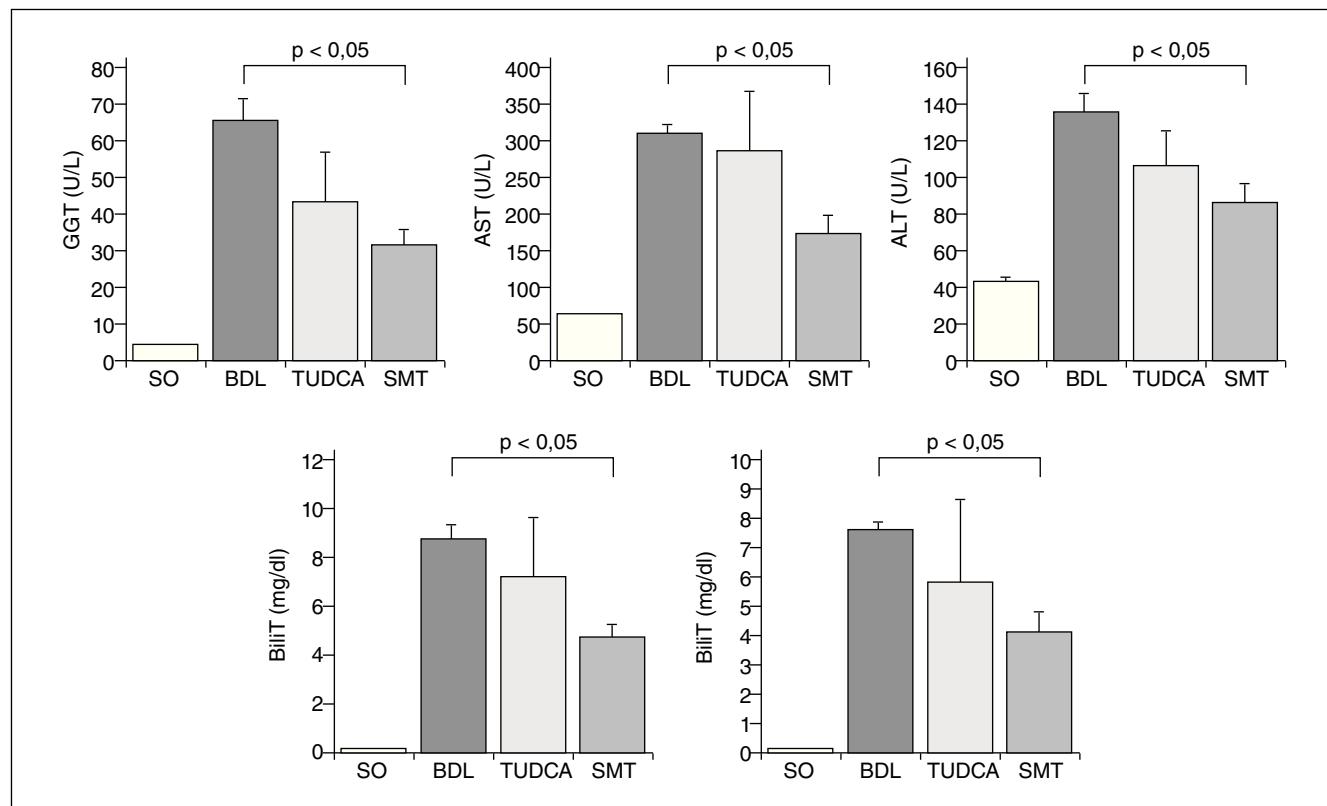


Figura 1

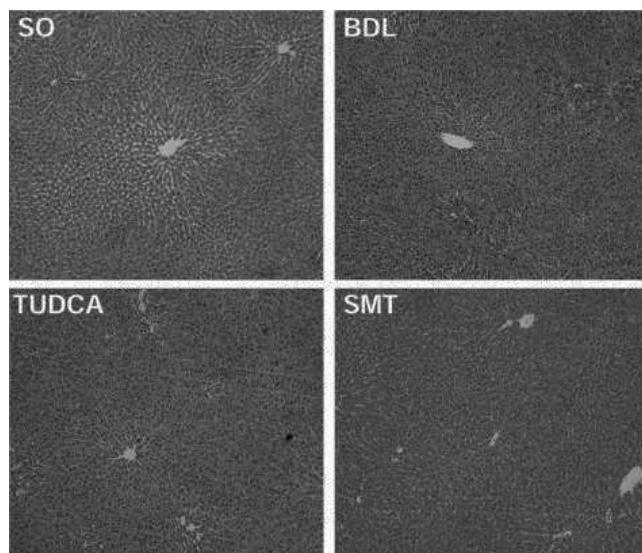


Figura 2

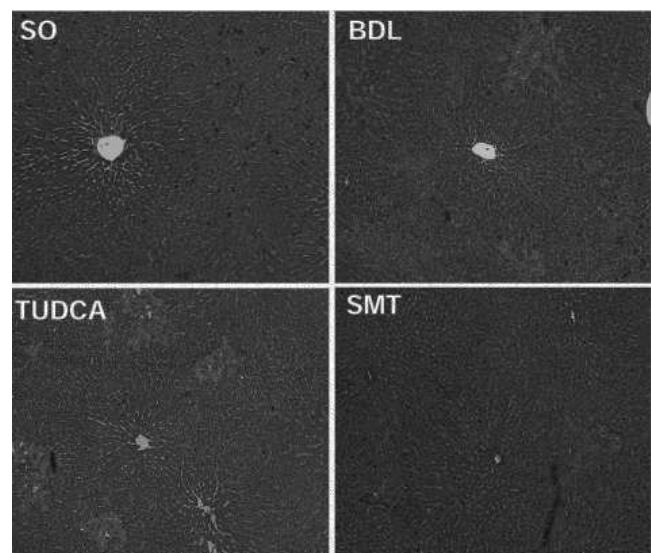


Figura 4

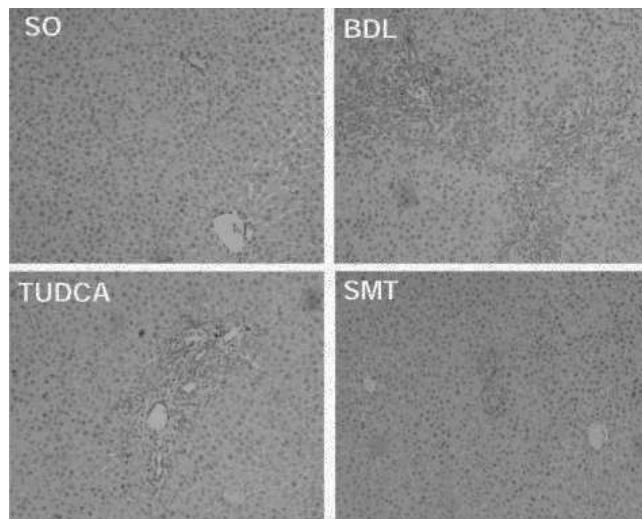


Figura 3

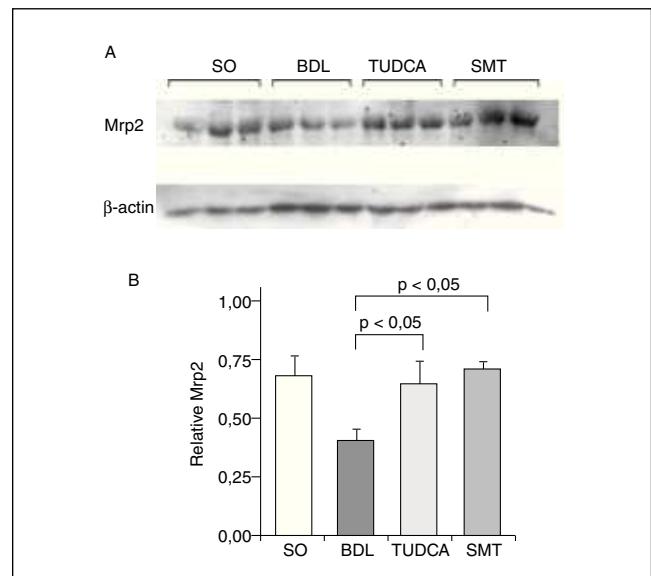


Figura 5

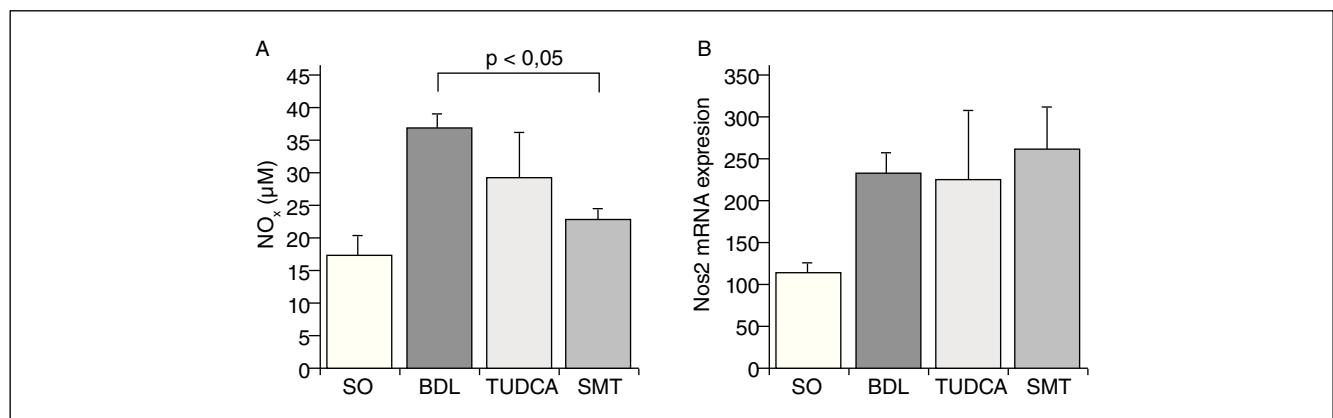


Figura 6

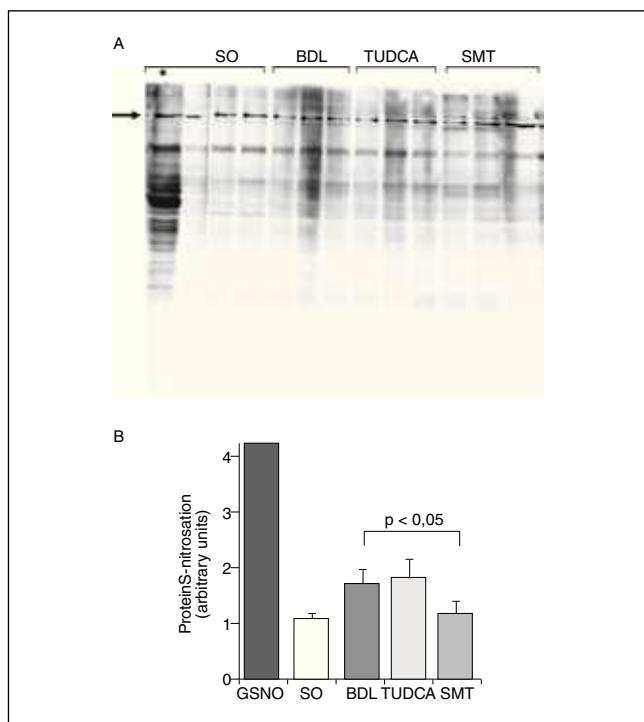


Figura 7

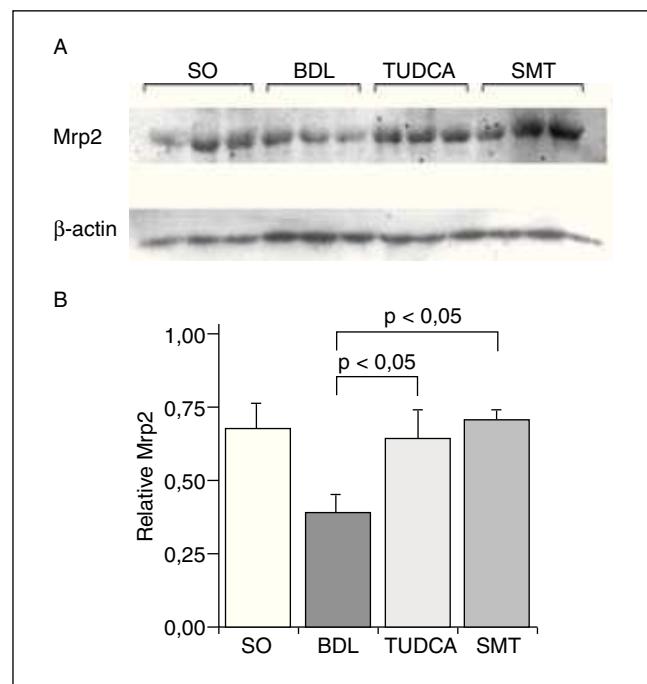


Figura 8

Table 1 S-nitrosated proteins identified by LC-MS/MS analysis in BDL rat liver lysates

Protein names	NCBI accession number	Number of sequenced peptides	Coverage (%)	Location
Cytoskeleton proteins				
Alpha-actin-2	P62738	1	10	Cyt
Tubulin beta-2A chain	P04691	1	4	Cyt
Metabolic enzymes				
S-adenosyl methionine synthetase type	P13444	1	6	Cyt
Aldehyde dehydrogenase, microsomal	P30839	2	5	ER
ATP synthase, subunit alpha	P15999	1	2	Mit
Betaine-homocysteine S-methyltransferase 2	Q68FT5	1	4	Cyt
Carbamoyl-phosphate synthase 1	P07756	13	20	Mit
Carboxylesterase 3 precursor	P16303	3	7	ER
Dihydroxyacetone kinase	Q4KLZ6	2	6	ER
10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	P28037	2	3	Cyt
Fructose-biphosphate aldolase B	P00884	3	11	Cyt
Glutamate dehydrogenase 1	P10860	1	5	Mit
Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	P22791	3	17	Mit
3-ketoacyl-CoA thiolase	P13437	1	8	Mit
L-lactate dehydrogenase A chain	P04642	1	6	Cyt
Long-chain-fatty acid- CoA ligase 1	P18163	2	9	Mit
Malate dehydrogenase	P04636	1	21	Mit
Pyruvate carboxylase mitochondrial precursor	P52873	2	6	Mit
Molecular chaperones				
HSP 90-beta	P34058	1	6	Cyt
PDI	P04785	2	9	ER
Ribophorin 1	P07153	2	7	ER
Detoxification enzymes				
Glutathione S-transferase Mu 1	P04905	2	28	Cyt
Glutathione S-transferase Mu2	P08010	3	22	Cyt
Signalling proteins				
Elongation factor 1-alpha 2	P62632	1	4	Cyt
Others				
Serum albumin precursor	P02770	3	12	Sec

Métodos: Se dividieron ratas macho Wistar (200-250 g) en 4 grupos (n = 10): operación simulada (OS), ligadura del conducto biliar (BDL), y ratas BDL tratadas con el inhibidor de síntesis de NO S-metilisotiourea (SMT, 25 mg/Kg) o con ácido taurosodeoxicólico (TUDCA, 50 mg/Kg). La función hepática y NO plasmático se analizaron mediante ensayos bioquímicos. La proliferación ductular se determinó en cortes teñidos con hematoxilina-eosina y se confirmó con inmunotinción específica (citoqueratina 19) de colangiocitos maduros. La fibrosis hepática se determinó mediante tinción con tricrómico de Masson. Se analizó la expresión de Mrp2 por western blot, y la de iNOS y la enzima nitrosoglutatión reductasa (GSNOR) por RT-PCR. Las proteínas S-nitrosiladas se detectaron y purificaron con el método "biotin-switch" y se identificaron por análisis proteómico con HPLC acoplado a ESI-MS/MS.

Resultados: Despues de 7 días, el inhibidor de iNOS fue mucho mas efectivo que TUDCA en reducir la lesión hepatocelular, con una disminución de enzimas hepáticas y de bilirrubina circulantes (Fig. 1) y un grado significativamente menor de proliferación ductular y fibrosis periportal (Figs 2-4). Ambos tratamientos recuperaron los niveles basales del transportador canalicular Mrp2 (Fig. 5), pero sólo el tratamiento con SMT disminuyó significativamente los elevados niveles plasmáticos de NO y de proteínas hepáticas S-nitrosiladas en las ratas BDL (Figs. 6 y 7). La expresión de GSNOR hepática, que regula la homeostasis de SNO y proteínas S-nitrosiladas, mostró un acusado descenso en ratas BDL, que se recuperó tras el tratamiento con SMT, pero no con TUDCA (Fig. 8). Se identificaron 25 proteínas hepáticas que se encontraban S-nitrosiladas en ratas BDL (Tabla 1), incluyendo S-adenosilmetionina sintetasa, betaina-homocisteína S-metiltransferasa, y hsp90.

Conclusiones: Nuestros resultados apoyan el beneficio terapéutico de inhibir la síntesis de NO, en un contexto colestásico, al facilitar la homeostasis de nitrosotioles, y proporcionan dianas de S-nitrosilación que posibilitarán el desarrollo de nuevas terapias en dolencias colestásicas.

P-43. PAPEL DE LA HIPERCOLANEMIA MATERNA EN LA ETIOPATOGENIA DEL SÍNDROME DE DISTRÉS RESPIRATORIO DE NEONATOS DE RATA

E. Herráez, R.I.R. Macías, E. Lozano, E. Poli, M.J. Monte, F. González San Martín, F. Jiménez, M.J. Pérez, D. de Lucca, E. Keck y J.J.G. Marín

Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Universidad de Salamanca. CIBERhhd. Salamanca. España.

Introducción: La etiopatogenia del síndrome de distrés respiratorio del neonato se ha asociado con la presencia de colestasis en la embarazada.

Objetivos: Investigar el papel de la acumulación de ácidos biliares en la sangre materna en el daño pulmonar fetal asociado a la colestasis durante la gestación.

Métodos: Como modelo experimental se ha utilizado la colestasis obstructiva inducida por doble ligadura y sección del conducto biliar común el día 14 de la gestación en ratas preñadas. A término se recogieron muestras de sangre y tejido pulmonar de las madres y sus fetos. Los niveles de expresión de las proteínas de interés se determinaron por RT-PCR cuantitativa, Western blot e inmunofluorescencia. Los niveles séricos de ácidos biliares se determinaron enzimáticamente y el pool global de estas moléculas se marcó por administración a las madres de [³H]-taurocolato.

Resultados: La colestasis materna produjo un aumento de los niveles séricos de ácidos biliares en las madres ($?20$) y, gracias a la barrera placentaria, menos marcadamente en sus fetos ($?3$). La cantidad de ácidos biliares en el tejido pulmonar de fetos de madres colestásicas fue el doble que la encontrada en los controles,

lo que se correlacionó con alteraciones estructurales (edema peribronquial, colapso de los espacios alveolares y depósitos de membrana hialina en la luz alveolar), infiltración de células inflamatorias, caída de la expresión de interleucina-6 y aumento de actividad de la mieloperoxidasa. La expresión en el tejido pulmonar de las proteínas transportadoras de aniones orgánicos (Oatps) no se modificó, pero aumentó la de proteínas ABC (ATP-binding cassette) como los transportadores de lípidos Abca1 y Mdr2 y las bombas exportadoras de aniones orgánicos Mrp3 y Bcrp.

Conclusiones: La acumulación de ácidos biliares en el tejido pulmonar fetal durante la colestasis materna altera la estructura y la funcionalidad de los alveolos neonatales, por acción directa (detergente) e indirecta (pro-inflamatoria), alterando también los niveles de expresión de varias proteínas ABC presentes en el tejido pulmonar que juegan un papel importante en la defensa del epitelio alveolar y en la formación del surfactante.

P-44. ALENDRONATO SEMANAL VS IBANDRONATO MENSUAL EN LA OSTEOPOROSIS DE LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA: SIMILAR EFICACIA PERO DISTINTA ADHERENCIA

N. Guañabens, D. Cerdá, A. Monegal, A. Muxí, L. Caballería, P. Peris, F. Pons y A. Parés

Unidad de Patología Metabólica Ósea y Unidad de Hepatología. Hospital Clínic. CIBERhhd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción: Pocos estudios han evaluado el tratamiento de la osteoporosis de la cirrosis biliar primaria (CBP). Se ha descrito que el alendronato (70 mg/s) es eficaz para aumentar la masa ósea de los pacientes con CBP y tiene pocos efectos adversos. Sin embargo, se desconoce si el tratamiento con ibandronato es eficaz y bien tolerado en esta enfermedad.

Objetivos: Evaluar la eficacia de una dosis semanal de alendronato (70 mg) en comparación con una dosis mensual de ibandronato (150 mg) sobre la masa ósea y los marcadores óseos en la CBP. Además, analizar la tolerancia y adherencia terapéutica. **Pacientes y métodos:** Se aleatorizaron 30 mujeres con CBP ($63,7 \pm 1,6$ años) con osteoporosis y/o fractura por fragilidad asociada a masa ósea baja, para recibir alendronato (n = 16) o ibandronato (n = 14) durante 1 año. Además de las pruebas hepáticas, se determinó al inicio y cada 6 meses, la densidad mineral ósea (DMO) lumbar y de fémur proximal (DXA), los niveles de 25-OH-D, PTH y los marcadores óseos (osteocalcina, P1NP, CTx y NTx). Se valoró la adherencia con el cuestionario de Morisky-Green.

Resultados: No existieron diferencias significativas basales en la edad, DMO y gravedad de la colestasis entre grupos. Completaron el año de tratamiento 14 pacientes con alendronato (2 abandonos por efectos adversos digestivos leves) y 10 pacientes con ibandronato (1 abandono por patología intercurrente, 1 por violación de protocolo, 1 por efectos adversos digestivos leves y 1 por dolor osteoarticular). A los 12 meses de tratamiento se observaron cambios significativos de la DMO lumbar para alendronato ($0,894 \pm 0,29$ a $0,933 \pm 0,31$ g/cm², $p = 0,01$) e ibandronato ($0,907 \pm 0,33$ a $0,941 \pm 0,36$ g/cm², $p = 0,025$), con cambios del 4,4 y 3,9%, respectivamente. En fémur total el aumento de la DMO fue del 1,6 y 1,2%, respectivamente. Las dos pautas se asociaron a una disminución precoz y de similar magnitud de los marcadores óseos. La adherencia fue superior para el ibandronato: 5 y 6 pacientes fueron poco adherentes para alendronato vs 1 y 0 pacientes para ibandronato a los 6 y 12 meses, respectivamente ($p = 0,02$). Ninguna de las dos pautas se asoció a alteraciones de la función hepática.

Conclusiones: Estos resultados indican que el alendronato semanal y el ibandronato mensual aumentan la DMO y reducen los marcadores óseos de forma similar en la osteoporosis asociada a la CBP, con un buen perfil de seguridad. Sin embargo, la adherencia terapéutica es superior para el ibandronato mensual.

P-45. LA BILIRRUBINA DISMINUYE LA VIABILIDAD Y DIFERENCIACIÓN EN OSTEOBLASTOS HUMANOS

S. Ruiz-Gaspà, A. Martínez-Ferrer, A. Enjuanes, P. Peris, M.J. Martínez de Osaba, L. Álvarez, A. Monegal, A. Combalia, N. Guañabens y A. Parés

Unidades de Patología Metabólica Ósea y de Hepatología. CIBERh. Hospital Clínic IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción: La osteoporosis de los pacientes con colestasis está asociada a una baja formación ósea, mediada por los osteoblastos. Se ha sugerido que las sustancias retenidas en la colestasis podrían intervenir en la función osteoblástica, pero el efecto de estas sustancias, como la bilirrubina, es poco conocido.

Objetivos: Analizar el efecto de la bilirrubina sobre la viabilidad y diferenciación de osteoblastos humanos primarios.

Material y métodos: El estudio se realizó sobre osteoblastos humanos obtenidos de hueso trabecular de pacientes con coartrosis, intervenidos para la colocación de una prótesis de cadera. Se evaluaron dos condiciones experimentales: a) distintas concentraciones de bilirrubina (10, 50, 100 y 1.000 μ M), y b) cultivo con suero obtenido de pacientes colestásicos con niveles normales y elevados de bilirrubina y de controles sanos. Los experimentos se realizaron a distintas horas (24, 48 y 72) y con la presencia o ausencia de suero fetal bovino (FBS). Se determinó la viabilidad celular mediante un método colorimétrico (Kit WST-1) y la diferenciación osteoblástica mediante la cuantificación de la actividad fosfatasa alcalina.

Resultados: La adición de bilirrubina a concentraciones de 50 y 100 μ M disminuyó la viabilidad un 36% y 56%, respectivamente ($p \leq 0,002$). Este efecto se observó en los cultivos a partir de 48 horas y fue menos marcado en los experimentos con FBS. La bilirrubina a 1.000 μ M tuvo un efecto muy lesivo ya que la supervivencia fue < 20% en todos los tiempos y condiciones ($p < 0,001$). Asimismo se observó que la bilirrubina (50 μ M) disminuyó la actividad fosfatasa alcalina en un 13,5% a las 72 horas ($p = 0,04$), y a 100 μ M en un 25%, 53% y 56% a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente ($p < 0,001$). Los sueros de pacientes ictéricos con concentraciones de bilirrubina de 6,6, 33 y 66 μ M disminuyeron de forma significativa la viabilidad osteoblástica a partir de las 48 horas en un 27%, 26% y 34%, respectivamente ($p < 0,03$). No se observaron efectos significativos en la viabilidad con los sueros de pacientes con colestasis y bilirrubina normal. Los sueros de los pacientes ictéricos también ocasionaron una disminución significativa de la actividad fosfatasa alcalina.

Conclusiones: La bilirrubina disminuye la supervivencia y diferenciación osteoblástica. Estos resultados explicarían, en parte, la disminución de la formación ósea de los pacientes con colestasis crónica.

P-46. IDENTIFICACIÓN DE UNA MUTACIÓN INACTIVANTE EN EL GEN DE LA BILIVERDINA REDUCTASA ALFA (BLVRA) QUE CAUSA ICTERICIA VERDE DEBIDA A HIPERBILIVERDINEMIA DURANTE EPISODIOS DE COLESTASIS

L. Sánchez-Vicente^a, M.A. Serrano^a, N.S. Nytofte^b, M.J. Monte^a, Z. Tumer^c, K. Ladefoged^b y J.J.G. Marín^a

^a*Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. CIBERh. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.*

^b*Queen Ingrids Hospital. Nuuk. Groenlandia. Dinamarca.*

^c*Wilhelm Johannsen Centret. The Panum Institute. Copenhagen. Dinamarca.*

Introducción: El catabolismo del grupo hemo implica la biotransformación de biliverdina IXa en bilirrubina IXa por la biliverdina re-

ductasa alfa (BVRA). La acumulación de biliverdina causante de "ictericia verde" es un hallazgo raro asociado a enfermedad hepática avanzada, como cirrosis o carcinoma hepatocelular. En este trabajo se ha identificado una mutación en el gen BLVRA que codifica la BVRA causante de episodios de "ictericia verde" en dos mujeres esquimales de distintas zonas de Groenlandia. **Métodos/Resultados:** Durante crisis de colestasis obstructiva debidas a colestasis ambas pacientes presentaron un intenso color verde en mucosas, suero y orina, junto con elevación de los marcadores bioquímicos de colestasis, salvo los niveles séricos de bilirrubina, que sorprendentemente eran normales o solo moderadamente elevados. Utilizando HPLC-MS/MS se detectaron niveles muy altos de biliverdina IXa en suero, orina, bilis y leche de una de las pacientes que estaba en periodo de lactancia durante una de las crisis. La hiperbiliverdinemía remitió tras la eliminación quirúrgica de la obstrucción biliar. El análisis de la secuencia codificante del gen de la BVRA reveló la presencia de tres SNPs: c.90G > A (exón 2), c.214C > A (exón 3) y c.743A > C (exón 8), que originan los siguientes cambios en la secuencia de aminoácidos: p.Ala3Thr, p.Ser44X, p.Gly220Gly. Esto implica la introducción de un codón de parada situado antes de la región catalítica de la BVRA. Utilizando sondas TaqMan se comprobó que ambas pacientes eran homocigóticas para la mutación c.214C > A. El estudio de distribución alélica en los parientes de primer grado de una de las pacientes reveló que tanto el padre como la madre eran heterocigóticos para la mutación, mientras que el hermano era homocigótico para el alelo normal y la hermana era, como la paciente, homocigótica para la mutación c.214C > A, si bien no presentaba historia de haber tenido signos de hiperbiliverdinemía.

Conclusiones: La ausencia completa de actividad BVRA no es una condición letal, siendo su consecuencia más destacable la aparición de hiperbiliverdinemía, en lugar de hiperbilirrubinemia, en pacientes con colestasis obstructiva sin deterioro general de la función hepática.

P-47. VALOR PREDICTIVO DE UNA RESPUESTA ANTIVIRAL PRECOZ AL TRATAMIENTO CON ALBINTERFERÓN ALFA-2B EN COMBINACIÓN CON RIBAVIRÍN EN PACIENTES NAÏVE CON HEPATITIS CRÓNICA C GENOTIPO 1 (HCC G1): RESULTADO DE UN ESTUDIO MULTICÉNTRICO

S. Zeuzem^a, M. Diago^b, M. Buti^c, R. Moreno^d y R. Planas^e, en representación del Grupo de Estudio ACHIEVE-1

^a*J.W. Goethe University Hospital. Frankfurt. Alemania.*

^b*Hospital General de Valencia. Valencia. España.*

^c*Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.*

^d*Hospital La Princesa. Madrid. España.*

^e*Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.*

Introducción: Estudio fase 3, aleatorizado, controlado, multicéntrico que evaluó la eficacia y la seguridad de albinterferón alfa-2b (albIFN), un polipéptido de fusión genética de albúmina con interferón alfa-2b en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.

Métodos: 1.331 pacientes fueron aleatorizados 1:1:1 a uno de los 3 grupos de tratamiento: alb-IFN900 μ g q2semanas; alb-IFN1200 μ g q2semanas; PEG-IFN α 2a 180 μ g semanal durante 48 semanas, en combinación con ribavirina oral ajustada por peso 1.000-1.200 mg/día. La aleatorización fue estratificada según niveles de ARN-VHC ($\geq 0 < 800,000$ IU/ML), BMI ($\geq 0 < 25$ kg/m²) y grupo étnico. El objetivo primario fue la respuesta virológica sostenida (RVS), definido como el suero ARN-VHC < 10 IU/ML en la semana 72. El tamaño de la muestra proporcionó un poder del 90% para demostrar no-inferioridad con un margen del 12%.

Resultados: se alcanzó el objetivo primario de no-inferioridad para RVS de albIFN 900 μ g ($p = 0,0008$) y albIFN 1.200 μ g ($p = 0,0029$) frente a PEG-IFN α 2a. En la población según intención-de-

tratar, las tasas de RVS fueron 51,0% (225/441), 48,2% (213/442), y 47,3% (208/440) en los grupos PEG-IFN α 2a, albIFN900 y albIFN1200. El valor predictivo positivo (VPP) de respuesta virológica inicial en semana 2 (RVI; > 2 log disminución o ARN-VHC < LOQ) fue del 73-84%; el PPV de respuesta viral rápida en Semana 4 (RVR; HCV el ARN < LOQ) fue del 83-88%. En los grupos PEG-IFN α 2a, albIFN 900 y albIFN 1200 las tasas de RVI fueron de 30,2%, 33,9%, y 38,2%; las tasas de RVR fueron de 26,5%, 24,0%, y 28,9%, respectivamente. El análisis multivariante identificó los siguientes factores predictivos de RVS: ARN-VHC < 400.000 IU/mL, edad < 45a, GGT normal, ALT elevada, fibrosis F0-2 y el grupo étnico, compatible con estudios anteriores. Los análisis de seguridad mostraron una tasa de efectos adversos graves (AA) de 23,1%, 24,0% y 28,2% respectivamente.

Conclusiones: Albinterferón alfa-2b 900 μ g administrado cada 2 semanas demuestra una eficacia comparable con el PEG-IFN α 2a en pacientes con la hepatitis crónica C genotipo 1. La respuesta antiviral precoz tiene un valor predictivo positivo para RVS en todos los grupos de tratamiento. La incidencia total de acontecimientos adversos es similar entre los grupos de tratamiento.

P-48. VALOR PREDICTIVO DE UNA RESPUESTA ANTIVIRAL PRECOZ AL TRATAMIENTO CON ALBINTERFERÓN ALFA-2B EN COMBINACIÓN CON RIBAVIRÍN EN PACIENTES NAÍVE CON HEPATITIS CRÓNICA C GENOTYPE 2 O 3: RESULTADOS DE UN ESTUDIO MULTICÉNTRICO

D. Nelson^a, M. Buti^b y M. Diago^c, en representación del Grupo de Estudio ACHIEVE2-3.

^aUniversity of Florida-Gainesville. Gainesville, FL. EE.UU.

^bHospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

^cHospital General de Valencia. Valencia. España.

Introducción: Estudio fase 3, aleatorizado, controlado, multicéntrico que evaluó la eficacia y la seguridad de albinterferón alfa-2b (albIFN), un polipéptido de fusión genética de albúmina con interferón alfa-2b en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 2-3

Métodos: un total de 933 pacientes fueron aleatorizados 1:1:1 a uno de 3 grupos de tratamiento combinados con ribavirina oral 800 mg/d: PEG-IFN α -2a 180 μ g semanal, o albIFN 900 o 1.200 μ g cada 2 semanas durante 24 semanas. La aleatorización fue estratificada por los niveles basales de ARN-VHC (\geq / $<$ 800.000 IU/mL) y genotipo 2/3. El objetivo primario fue la respuesta viral sostenida (RVS; ARN-VHC < 10 IU/mL semana 48). El tamaño de la muestra proporcionó un poder del 90% en demostrar no-inferioridad con un margen del 12%.

Resultados: se alcanzó el objetivo primario de no-inferioridad para RVS de albIFN 900 μ g ($p = 0,009$) y albIFN 1.200 μ g ($p = 0,006$) frente a PEG-IFN α 2a. Los resultados en un análisis de intención de tratar mostraron una tasa de RVS del 84,8%, 79,8%, y 80,0% para PEG-IFN α 2a, albIFN900 y albIFN1200, respectivamente. El valor predictivo positivo (VPP) de respuesta virológica inicial a la semana 2 (RVI; > 2 log disminución o ARN-VHC < LOQ) fue de 83-90%; el VPP de respuesta viral rápida a la semana 4 (RVR; ARN-VHC < LOQ) fue de 86-91%. En los grupos PEG-IFN α 2a, albIFN 900 y albIFN 1200, las tasas de IVR fueron 81,3%, 86,9%, y 85,8%; las tasas RVR de 84,2%, 79,2%, y 85,2% respectivamente. Entre los factores predictivos de RVS se identificaron: ARN-VHC < 400.000 IU/mL, edad < 45 años, BMI < 30, genotipo 2, GGT normal, ALT elevada, estadio de fibrosis F0-2, y pertenecer a la región asiática. El análisis por subgrupo mostró tasas RVS en Asia ($n = 271$) del 95,5%, el 79,8%, y el 81,8% para PEG-IFN α 2a, albIFN 900 y 1.200 μ g, respectivamente, frente a 80,5%, 79,8%, y 79,3% en el resto de regiones ($n = 662$). Los datos de seguridad fueron similares entre los grupos de tratamiento.

Conclusiones: AlbIFN 900 μ g cada 2 semanas demostró una eficacia comparable al PEG-IFN α 2a con tasas similares de acontecimientos adversos. La respuesta antiviral precoz tiene un valor predictivo positivo para RVS en todos los grupos de tratamiento.

P-49. PÉPTIDOS INHIBIDORES DE INTERLEUCINA 10 AUMENTAN LA INMUNOGENICIDAD DE VACUNAS FRENTES AL VIRUS DE LA HEPATITIS C BASADAS EN CÉLULAS DENDRÍTICAS

N. Díaz-Valdés^a, L. Manterola^a, V. Belsúe^a, J.I. Rieu-Boj^a, E. Larrea^a, J. López-Sagasta^b, J. Hermida^b, J. Prieto^{a,c}, J.J. Lasarte^a, F. Borrás-Cuesta^a y P. Sarobe^a

^aDivisión de Hepatología Terapia Génica.

^bDivisión de Ciencias Cardiovasculares.

^cCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: Los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) se caracterizan por presentar altos niveles séricos de la citoquina inmunosupresora interleuquina 10 (IL-10), lo que sugiere que ésta podría ser responsable de la pobre respuesta inmune celular antiviral que se encuentra en estos pacientes. Puesto que IL-10 suprime la función de células presentadoras de antígeno como las células dendríticas (CD), el objetivo del presente trabajo ha sido el desarrollo de péptidos inhibidores de IL-10 que pudieran restaurar las funciones de las CD y así mejorar su capacidad de inducir respuestas antivirales.

Métodos: Mediante una librería de fagos recombinantes se seleccionaron péptidos capaces de unirse a IL-10, que luego se caracterizaron en ensayos *in vitro* de proliferación, fosforilación así como en su efecto sobre diferentes funciones de CD murinas y humanas.

Resultados: Se seleccionaron los péptidos p9 y p13, capaces de unirse a IL-10, que inhibían su efecto proliferativo en un bioensayo y en ensayos de fosforilación de STAT-3. En cultivos de leucocitos humanos, donde la proteína core del VHC induce la producción de IL-10, el péptido p13 restauró la capacidad de las CD plasmacitoides de producir IFN-alfa tras su estimulación con un ligando de TLR9. De la misma manera, cuando las CD mieloides se estimularon con CD40L, el péptido p9 restauró la producción de IL-12 mediante la inhibición de IL-10 inducida por core. Además, p13 fue capaz de aumentar *in vitro* el efecto de los estímulos de maduración sobre CD humanas y murinas, potenciando la producción de IL-12 y mejorando su capacidad estimuladora de linfocitos T, lo que resultó en un aumento de su proliferación y de la producción de IFN-gamma. Finalmente, la vacunación con CD murinas estimuladas en presencia de p13 fue capaz de inducir respuestas celulares más potentes frente al antígeno del VHC.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que los péptidos inhibidores de IL-10 podrían tener importantes aplicaciones en la inmunoterapia de la infección crónica por VHC, mediante su capacidad de aumentar la funcionalidad de las CD.

P-50. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C INDUCE LA EXPRESIÓN HEPÁTICA DE LAS QUIMIOCINAS CCL17 Y CCL22, LAS CUALES FAVORECEN LA MIGRACIÓN DE CÉLULAS T REGULADORAS AL HÍGADO CONTRIBUYENDO A LA CRONIFICACIÓN DE LA INFECCIÓN

J.I. Rieu-Boj, E. Larrea, R. Aldabe, L. Guembe, E. Galeano, I. Echeverría, P. Sarobe, J. Prieto y J.J. Lasarte

Área de Hepatología y Terapia Génica y Servicio de Morfología. CIMA. Pamplona. España.

Departamento de Medicina Interna. Clínica Universitaria de Navarra y CIBERehd. Instituto Carlos III. Pamplona. España.

Introducción: La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se caracteriza por una alta tendencia a la cronicidad. La curación espontánea y la respuesta al tratamiento de esta enfermedad están asociadas a una fuerte respuesta inmune celular. Esta respuesta es

casi indetectable en los pacientes con hepatitis crónica C (HC-C). En pacientes con HC-C se ha encontrado un mayor número de células T reguladoras (Treg), lo que podría estar obstaculizando una respuesta inmune efectiva. En el presente trabajo hemos analizado la producción de factores atractantes de Treg por células infectadas por VHC.

Métodos: Hemos utilizado biopsias hepáticas de 26 pacientes con HC-C y de 11 pacientes con respuesta virología sostenida tras el tratamiento con interferón. Asimismo estudiamos 16 pacientes con otras hepatopatías no relacionadas con el VHC (8 con infección por virus de la hepatitis B y 8 con esteatohepatitis) y 24 muestras de hígado sano. Se determinó por PCR cuantitativa la expresión de Foxp3 (un marcador de Treg) y de las quimiocinas CCL17 y CCL22 implicadas en la atracción de Treg. Asimismo se cuantificó por inmunofluorescencia en tejido hepático las células CD3+Foxp3+. Además se analizó la producción de quimiocinas por células dendríticas derivadas de monocitos (MDDC) puestas en contacto con células Huh7 no infectadas o infectadas con la cepa JFH1 del VHC y se estima la capacidad quimiotáctica de estos cocultivos para atraer Treg.

Resultados: Encontramos que la expresión de Foxp3, CCL17 y CCL22 es significativamente elevada en pacientes con HC-C. Igualmente estos enfermos presentan un porcentaje de células CD3+Foxp3+ significativamente superior al hallado en pacientes con otras hepatopatías ($17 \pm 9\%$ vs $3 \pm 3\%$, $p < 0,001$). Observamos que las MDDC cocultivadas con Huh7 infectadas con JFH1 expresaban niveles significativamente más altos de mRNA y proteína de CCL17 y CCL22 que las cocultivadas con Huh7 no infectadas (936 ± 115 vs 801 ± 76 pg/ml de CCL17, $p < 0,05$ y 4174 ± 378 vs 2434 ± 776 pg/ml de CCL22, $p < 0,05$ respectivamente). Asimismo hallamos que los sobrenadantes de cocultivos de MDDC con Huh7 infectadas con JFH1 ejercen un quimiotactismo positivo sobre Treg mayor que los cocultivos de MDDC con células no infectadas ($p < 0,05$) y que este efecto es bloqueado cuando inhibimos las quimiocinas con anticuerpos específicos.

Conclusiones: Las células dendríticas puestas en contacto con células infectadas por el VHC producen quimiocinas (CCL22 y CCL17) capaces de atraer Treg. Esto concuerda con mayores niveles de CCL22, CCL17 y de células Foxp3+ en biopsias hepáticas de pacientes con HC-C en comparación con controles. Estos hallazgos son relevantes para explicar la cronificación de la infección e identifican nuevas dianas para el tratamiento de la HC-C.

P-51. TRES AÑOS DE TRATAMIENTO CON TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATO (TDF) EN PACIENTES HBEAG-POSITIVO CON HCB (ESTUDIO 103). ANÁLISIS PRELIMINAR

T. Casanovas^a, E.J. Heathcote^b, E. Gane^c, R. deMan^d, S. Lee^e, R. Flisiak^f, S. Mauss^g, K. Tcherney^h, O. Kurdasⁱ, M. Shiffman^j, P. Marcellin^k, M. Buti^l, M. Prieto^m, J. Enríquezⁿ, J. Sorbel^o, J. Anderson^p, E. Mondou^q y F. Rousseau^r

^aCSU. Bellvitge. Barcelona. España.

^bToronto Western H. University of Toronto. Canadá.

^cMiddlemore H. Nueva Zelanda.

^dErasmus MC. University Medical Center. Países Bajos.

^eUniversity of Calgary. Canadá.

^fMedical University of Bialystok. Polonia.

^gMedical School of Hannover. Alemania.

^hMedicine University of Sofia. Bulgaria.

ⁱHaydarpaşa Numune Hospital. Istanbul. Turquía.

^jVirginia Commonwealth University. Richmond VA.

^kHospital Beaujon. Francia.

^lHospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

^mHospital La Fe. Valencia. España.

ⁿHospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

^oGilead Sciences. Durham NC.

Introducción: TDF es un análogo de nucleótido aprobado para el tratamiento de la Hepatitis crónica B (HCB). Tras los 2 primeros años de este estudio se logró la supresión del ADN-VHB en el 78% de los pacientes y pérdida de HBsAg en el 6% de los pacientes (análisis por intención de tratar, AIT). Se muestran los resultados de esta cohorte de tratamiento a 3 años.

Métodos: Pacientes monoinfectados con HCB HBeAg-positivo fueron aleatorizados 2:1 (doble-ciego) a recibir TDF 300 mg (N = 176) o adefovir dipivoxil 10 mg (ADV) (N = 90) durante las primeras 48 semanas(S). Tras biopsia hepática a la S48, cambiaron a fase abierta recibiendo TDF durante 7 años adicionales. A partir de la S72 o posteriormente, los pacientes con DNA-VHB ≥ 400 copias(c)/mL (69 UI/mL) podían ser tratados con TDF y emtricitabina. El ADN-VHB fue determinado mediante COBAS TaqMan (Roche) (límite de detección = 169 c/mL = 29 IU/mL).

Resultados: Un total de 214 pacientes completaron 144 S de tratamiento. En el AIT a largo plazo la respuesta virológica (RV) (ADN-VHB < 400 c/mL) del total de pacientes fue del 78% sin diferencias significativas entre los grupos originales de tratamiento. El análisis por protocolo (APP) mostró RV en el 95% de los tratados con TDF durante 3 años y 89% de los tratados con terapia secuencial (ADV48S-TDF96S). Se detectó ADN-VHB ≥ 400 c/mL en 14 pacientes a las 144S, y adicionalmente en 3 pacientes en su última visita antes de discontinuar el tratamiento con TDF durante el 3er año. Un total de 31 pacientes cambiaron a FTC+TDF entre la S72 y 144 por presentar ADN-VHB ≥ 400 c/mL, de ellos 17 tuvieron ADN-VHB < 400 c/mL a la S144. La media global de ALT fue 38,5 UI/L. La pérdida de HBeAg y seroconversión se observó en el 35% y 26% de pacientes respectivamente (APP). La probabilidad acumulada de pérdida de HBsAg y seroconversión HBsAg fue del 8% y 5% respectivamente. Los pacientes con pérdida de HBsAg pertenecían a los genotipos A(12), D(7) o F(1). 14 pacientes discontinuaron tratamiento entre la S96 y 144, ninguno debido a efectos adversos (EA). No se produjeron muertes durante el estudio y ningún paciente presentó EAG durante el tratamiento considerados relacionados con TDF. Un paciente con incremento de creatinina de 0,5 mg/dL durante el 2º año lo mantuvo durante el año 3. El estudio de resistencias está en curso.

Conclusiones: TDF fue bien tolerado y produjo supresión viral potente y continuada con aumento progresivo de la pérdida de HBeAg y HBsAg a lo largo de 3 años de tratamiento en pacientes HBeAg+.

P-52. RESULTADOS A 3 AÑOS DE TRATAMIENTO CON TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATO (TDF) EN PACIENTES CON HEPATITIS B CRÓNICA HBEAG-NEGATIVO

M. Buti^a, P. Marcellin^b, Z. Krastev^c, G. Germanidis^d, K. Kaita^e, I. Kotzev^f, P. Buggisch^g, F. Weilert^h, H. Trinhⁱ, S. Gurel^j, E.J. Heathcote^k, M. Prieto^l, J.L. Calleja^m, J. Sorbelⁿ, J. Anderson^o, E. Mondou^q y F. Rousseau^r

^aHospital Vall d'Hebron. Barcelona. España

^bHospital Beaujon. Francia.

^cUniversity H. St Ivan Rilsky. Bulgaria.

^dPapageorgiou Peripheral General Hospital. Thessaloniki. Grecia.

^eJohn Buhler Research Centre. University of Manitoba.

Winnipeg MB. Canadá.

^fUniversity H. Sveta Marina. Varna. Bulgaria.

^gMedizinische Universitätsklinik Eppendorf. Hamburg. Alemania.

^hWaikato Hospital Hamilton. Nueva Zelanda.

ⁱSan Jose Gastroenterology. San Jose. CA. EE.UU.

^jUniversity of Uduag. Bursa. Turquía.

^kUniversity of Toronto. Toronto. Canadá.

^lHospital La Fe. Valencia. España.

^mHospital Puerta de Hierro. Madrid. España.

ⁿGilead Sciences. Durham NC.

Introducción: TDF es un análogo de nucleótido aprobado para el tratamiento de VIH-1 en 2001 y para el tratamiento de la Hepatitis crónica B (HCB) en 2008. A nivel mundial, más de un millón de pacientes toman TDF diariamente.

Métodos: Pacientes monoinfectados con HCB HBeAg-negativo fueron aleatorizados 2:1 (doble-ciego) a recibir TDF 300 mg (N = 250) o adefovir dipivoxil 10 mg (ADV) (N = 125) una vez al día. Tras biopsia hepática a la semana (S) 48, todos los pacientes cambiaron a fase abierta recibiendo TDF durante 7 años adicionales. A la semana 72 o posteriormente, los pacientes con DNA-VHB \geq 400 copias/mL (69 UI/mL) tenían la opción a ser tratados con TDF y emtricitabina. El ADN-VHB fue determinado a través de COBAS TaqMan (Roche) (Límite de detección = 169 copias/mL = 29 IU/mL).

Resultados: Un total de 328 pacientes completaron 3 años de tratamiento. En el análisis a largo plazo por intención de tratar la respuesta virológica (ADN-VHB $<$ 400 copias/mL) del total de pacientes fue del 88% sin diferencias entre los grupos de tratamiento originales aleatorizados. En el análisis por protocolo se observó respuesta virológica en el 99,1% de todos los pacientes en tratamiento con TDF al tercer año. Tres pacientes tuvieron ADN-VHB \geq 400 copias/mL a la S 144 y un paciente adicionalmente discontinuó TDF durante el tercer año con ADN-VHB \geq 400 copias/mL en el momento del abandono del estudio. 3 pacientes iniciaron tratamiento con FTC+TDF en fase abierta a partir de la S72; todos ellos tuvieron ADN-VHB $<$ 400 copias/mL a la S144. No se detectaron mutaciones asociadas a resistencia a TDF durante los 3 años de tratamiento. La media global de ALT a la S144 fue de 33 UI/L. La seguridad fue buena hasta el tercer año. Sólo 7 pacientes discontinuaron el tratamiento durante el tercer año; ninguno de ellos a causa de efectos adversos. 2 pacientes fallecieron durante el tercer año, ninguna muerte se consideró relacionada con el fármaco en estudio. El aclaramiento de creatinina se mantuvo estable durante los 3 años y ningún paciente tuvo incremento de 0,5 mg/dL en creatinina o descenso de aclaramiento de creatinina $<$ 50 mL/min.

Conclusiones: TDF fue bien tolerado y produjo una supresión viral potente y continuada en pacientes HBeAg-. No fueron detectadas mutaciones de resistencia asociadas durante tres años de tratamiento con TDF.

P-53. SUPRESIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS LINFOCITOS REGULADORES POR MEDIO DE UN PÉPTIDO INHIBIDOR DE FOXP3: APLICACIÓN EN LA VACUNACIÓN FREnte AL VIRUS DE LA HEPATITIS C

N. Casares, L. Arribillaga, F. Rudilla, D. Llopiz, J.I. Riezu-Boj, P. Sarobe, F. Borrás-Cuesta, J. Prieto y J.J. Lasarte

Centro de Investigación Médica Aplicada. CIMA. Pamplona. España.

Introducción: Los linfocitos T CD4+CD25+ reguladores (Treg) son esenciales para la protección frente a las enfermedades autoinmunes y en la prevención del rechazo a los transplantes. Sin embargo, debido a sus propiedades inmunosupresoras, pueden ser capaces de inhibir la activación de respuestas inmunitarias frente al cáncer e infecciones virales. El factor de transcripción FOXP3 es imprescindible para su desarrollo y su actividad inmunosupresora. Por este motivo, con el fin de inhibir la actividad de dichas células, nuestro objetivo ha sido el desarrollo de péptidos inhibidores de FOXP3 para su aplicación en la potenciación de una vacuna frente al virus de la Hepatitis C (VHC) basada en un adenovirus recombinante que expresa la proteína NS3 (AdNS3).

Métodos: La identificación del péptido inhibidor de FOXP3 se realizó mediante el uso de librerías de fagos. Posteriormente, se comprobó su capacidad para unirse la proteína FOXP3 (mediante resonancia de plasmones), entrar en la célula y bloquear la translocación de FOXP3 al núcleo (microscopía confocal), inhibir la actividad de Treg purificados tanto humanos como murinos (ensayos de

proliferación celular) y restablecer la actividad de factores de transcripción tales como NFAT y NFkB en ensayos de luciferasa. En cuanto a los estudios in vivo, se analizó el efecto immunopotenciador de P60 en la vacunación de ratones BALB/c con el adenovirus AdNS3 en un modelo de infección con virus vaccinia que expresa la poliproteína del VHC (vHCV1-3011).

Resultados: Hemos identificado el péptido P60, capaz de unirse a FOXP3, inhibir su translocación al núcleo. Hemos observado que FOXP3 inhibe la actividad transcripcional de los factores de transcripción NFAT y NFkB. Sin embargo, la adición de P60 era capaz de restablecer la actividad de NFAT y NFkB. P60 inhibe *in vitro* la actividad inmunosupresora de las Treg. La vacunación de ratones BALB/c con AdNS3 es capaz de proteger a un 60% de los ratones de la posterior infección con vHCV1-3011. Sin embargo, la combinación del adenovirus con P60 fue capaz de proteger el 100% de los animales.

Conclusiones: Estos resultados muestran que el péptido P60 es capaz de inhibir la actividad de FOXP3 y de las Treg y así aumentar la eficacia de una vacuna basada en el uso de un adenovirus que expresa la proteína NS3. Esta estrategia podría aplicarse en la vacunación terapéutica frente al VHC.

P-54. LA PRESENCIA DE MUTACIONES EN EL PROMOTOR BÁSICO DEL CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES HBEAG POSITIVO IDENTIFICA A LOS PACIENTES QUE REQUERIRÁN TRATAMIENTO ANTIVIRAL A LARGO PLAZO TRAS LA SEROCONVERSIÓN A ANTIHBE

D. Tabernero^a, M.J. Sánchez^b, M. Homs^a, F. Rodríguez-Frías^{a,c}, R. Jardí^{a,c}, M. Schaper^a, R. Esteban^{b,c} y M. Buti^{b,c}

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) del Instituto Carlos III. Barcelona. España.

^bDepartamento de Hepatología.

^cDepartamento de Bioquímica.

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: Algunos pacientes con hepatitis crónica B (HCB) HBeAg positivo mantienen niveles detectables de ADN-VHB y progresión de la enfermedad hepática, tras la pérdida del HBeAg. Identificar a estos pacientes permitiría que se beneficiasen del mantenimiento del tratamiento antiviral tras la pérdida del HBeAg.

Objetivos: Evaluar la relación entre las características virológicas basales del VHB en la fase HBeAg positivo (genotipo, niveles de ADN-VHB y las mutaciones en las posiciones 1762 y 1764 del promotor básico del core (PBC) y en la región precore (PC) del VHB) y los cambios de estas variables en el momento de y tras la pérdida del HBeAg, en pacientes con replicación persistente del VHB.

Pacientes y métodos: Se analizaron 60 muestras de suero de 20 pacientes (15 varones, mediana de edad 37 años) con HCB HBeAg positivo, que perdieron el HBeAg espontáneamente o con tratamiento antiviral (8 interferón, 10 análogos de los núcleos(t)idos) y posteriormente fueron seguidos longitudinalmente. El genotipo del VHB y las mutaciones del PBC y del PC se determinaron, mediante hibridación inversa (INNO-LiPA). El ADN-VHB se cuantificó por PCR en tiempo real (sistema Light-Cycler).

Resultados: Basalmente, 13 (65%) pacientes presentaban genotipo A y 7 (35%) genotipo D. En el PC se detectaron mutaciones en 6 (30%) pacientes y en el PBC en las posiciones 1762 y 1764 también en 6 pacientes respectivamente. La mediana de los niveles de ADN-VHB fue 7,7 log10 copias/ml. Todos los pacientes perdieron el HBeAg y 16 (80%) seroconvirtieron a antiHBe. Ocho (40%) pacientes presentaron ADN-VHB indetectable tras un seguimiento medio de 39,5 meses y 12 (60%) ADN-VHB detectable (niveles medios 7,5 log10 copias/ml), tras un seguimiento medio de 74,5 meses. La única variable asociada con la replicación persistente del VHB tras

la pérdida de HBeAg fue la presencia de mutaciones en el PBC basalmente ($p = 0,017$). Además 2 pacientes desarrollaron mutaciones en el PBC durante el seguimiento. Cuatro pacientes negativizaron el HBsAg después de un seguimiento medio de 35 meses, todos ellos presentaron genotipo A y en ningún caso se detectaron mutaciones en el PBC.

Conclusiones: La detección de mutaciones en el PBC en pacientes con HCV HBeAg positivo, es un indicador de los que van a presentar viremia persistente tras la pérdida del HBeAg al interrumpir el tratamiento. El estudio de estas mutaciones podría seleccionar pacientes candidatos a recibir terapia antiviral continuada.

P-55. INMUNIZACIÓN FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C MEDIANTE EL USO DE UN PÉPTIDO DE LA PROTEÍNA NS3 UNIDO COVALENTEMENTE A LAS MODULINAS DERIVADAS DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

M. Durantez^a, C. Fayolle^b, N. Casares^a, V. Belsue^a, J.I. Riezu^a, P. Sarobe^a, J. Prieto^{a,c}, F. Borrás-Cuesta^a, C. Leclerc^b y J.J. Lasarte^a

^aCentro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Division of Hepatology and Gene Therapy. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^bInstitut Pasteur. Unité de Régulation Immunitaire et Vaccinologie. INSERM. París. Francia.

^cCIBERehd. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: Las proteínas recombinantes son generalmente poco inmunogénicas si no se combinan con adyuvantes adecuados o son modificados para favorecer su captura por las células dendríticas (CD) y su posterior maduración. *S. epidermidis* produce un complejo de al menos cuatro péptidos, llamado “phenol-soluble modulins”, que activa la producción de citoquinas proinflamatorias por los macrófagos a través de la vía Toll like receptor 2 (TLR2). En este trabajo analizamos si la unión de un antígeno peptídico de la proteína NS3 del virus de la hepatitis C (VHC) a los péptidos derivados de la modulina de *S. epidermidis* podría facilitar la captura del antígeno por las células dendríticas que expresan TLR2 y favorecer la inducción de una respuesta inmunitaria frente al VHC.

Métodos: Analizamos por citometría de flujo la capacidad de los péptidos derivados de alfa-Mod y gamma-Mod para unirse a diferentes subpoblaciones leucocitarias. Estudiamos la capacidad de estos péptidos para activar la maduración de las células dendríticas y mejorar la presentación antigénica así como para inducir una respuesta citotóxica antigénica específica mediante ensayos de “in vivo killing” y ELISPOT. Sintetizamos los péptidos alfa-Mod-1073 y gamma-Mod-1073 que contienen los péptidos alfa y gamma de la modulina fusionados al epítopo T citotóxico p1073-1081 de la proteína NS3 del VHC que es reconocido en el contexto de la molécula humana HLA-A2. Inmunizamos ratones transgénicos HHD con estos péptidos y analizamos su capacidad de inducir una respuesta celular frente al VHC.

Resultados: Hemos demostrado que los péptidos sintéticos que contienen alfa-Mod y gamma-Mod son capaces de unirse a la superficie de varias subpoblaciones de esplenocitos y en particular a las células presentadoras de antígeno. Estos péptidos inducen la maduración de CD y consiguen mejorar la presentación antigénica. La inmunización de ratones transgénicos HHD que expresan la proteína HLA-A2 con los péptidos alfa-Mod-p1073 y gamma-Mod-p1073, en combinación con el adyuvante poli(I:C), indujo potentes respuestas T citotóxicas frente al péptido p1073, algo que no ocurría cuando los ratones eran inmunizados con el p1073 y poli(I:C).

Conclusiones: Los péptidos alfa y gamma derivados de la modulina pueden ser utilizados para el “targeting” de antígenos a las células presentadoras. La unión de un antígeno del VHC a estos péptidos constituye una estrategia útil en el desarrollo de una vacuna frente al VHC.

P-56. EVALUACIÓN ECONÓMICA DE UN PROGRAMA DE ATENCIÓN MULTIDISCIPLINARIO EN EL TRATAMIENTO DE HEPATITIS C: RESULTADOS PRELIMINARES

M. García-Retortillo^a, V. Martín-Escudero^b, M.D. Giménez^a, I. Cirera^a, C. Márquez^a, P. Castellví^a, R. Navinés^a, O. Urbina^a, E. Salas^a, R. Martín-Santos^c, C. Varela^b y R. Solà^a

^aSección de Hepatología. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

^bRoche Farma. Madrid. España.

^cServicio de Psiquiatría/Unidad de Investigación en Farmacología. Hospital del Mar. IMIM. Barcelona. España.

^dServicio de Farmacia. Hospital del Mar. IMIM. Barcelona. España.

Introducción: La adherencia al tratamiento es un factor importante que influye en el éxito de la terapia de la hepatitis crónica C (HCC).

Objetivos: Comparar los costes y efectos de un programa de atención multidisciplinario (PAM) versus la estrategia convencional en un grupo de pacientes con HCC, con el fin de ayudar a optimizar la asignación de recursos.

Métodos: Se incluyeron en el estudio 278 pacientes con HCC no-infectados no tratados previamente: Grupo 1 ($n = 131$) con estrategia PAM y Grupo 2 ($n = 147$) controlados con estrategia convencional. Todos los pacientes fueron tratados con Peg-IFN alfa-2a y ribavirina. Además de hepatólogos y enfermeras, el PAM incluyó farmacéuticos, psicólogos y administrativos. Se realizó además, un esquema de visitas abierto y flexible, un control activo de la medición, una evaluación continuada del riesgo psiquiátrico y se ofreció a los pacientes información estandarizada. Se desarrolló un árbol de decisión para estimar el ratio coste-efectividad incremental (RCEI) del PAM versus la estrategia convencional. Se incluyeron los costes unitarios de los medicamentos y del tiempo de los profesionales. La efectividad se midió en términos de respuesta viral sostenida (RVS) y la adherencia se definió como la administración de > 80% de la dosis total prescrita.

Resultados: Para genotipos 1/4 (G-1/4), el 92,4% de los pacientes fueron adherentes en el grupo 1 y el 69,3% en el grupo 2 ($p = 0,0005$) mientras que para genotipos 2/3 (G-2/3), el 96,9% y 93,2% de los pacientes fueron adherentes en los grupos 1 y 2 respectivamente ($p > 0,05$). La RVS fue 66,7% en el grupo 1 y 48,9% en el grupo 2 para G-1/4 ($p = 0,03$) y 87,7% y 81,4% para G-2/3 ($p > 0,05$) en los grupos 1 y 2 respectivamente. El coste por RVS fue superior en el grupo 2 que en el grupo 1 (24.079€ y 20.197€ en G-1/4; 8.351€ y 7.723€ en G-2/3). El coste por cada RVS adicional en el grupo 1 fue de 9.533€ en pacientes con G-1/4, en pacientes con G-2/3 el grupo 1 fue dominante, es decir, más efectivo y menos costoso que en el grupo 2.

Conclusiones: El PAM mejora la adherencia en el tratamiento de la HCC y con ello la respuesta virológica, pudiendo ser además, una estrategia coste-efectiva en comparación con la estrategia de tratamiento convencional.

P-57. RESULTADOS CLÍNICOS, HISTOLÓGICOS Y HEMODINÁMICOS DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON RECIDIVA C TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

J.A. Carrión, G. Crespo, G. Fernández-Varo, R. Miquel, J.C. García-Pagán, J. Bosch, W. Jiménez, M. Navasa y X. Forns

Unidad de Hepatología del Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBERehd. Barcelona. España.

Antecedentes: Pocos estudios han evaluado el impacto del tratamiento antiviral en la fibrosis hepática, la presión portal y la supervivencia del injerto en pacientes con recidiva C tras el trasplante hepático (TH).

Objetivos: Evaluar clínicamente, histológicamente y hemodinámicamente la respuesta antiviral en pacientes con recidiva C tras el TH.

Métodos: Se incluyeron 93 pacientes con recidiva C post-TH (2000-2006) que recibieron interferón pegilado alfa-2b y ribavirina, con un seguimiento medio post-tratamiento de 27 meses. En todos los pacientes se realizó una biopsia hepática al inicio y al final del tratamiento; el gradiente de presión venoso hepático (GPVH) se determinó en 68 pacientes.

Resultados: Treinta y dos (34%) pacientes alcanzaron una respuesta viral sostenida (RVS). En el inicio del tratamiento, había fibrosis significativa ($F \geq 2$) en 20 (63%) de los 32 pacientes que lograron la RVS (RVSS) vs 40 (66%) de los 61 que no respondieron (NRs) ($p = ns$) e hipertensión portal ($GPVH \geq 6$ mmHg) en 14 (54%) de los 26 RVSS vs 35 (69%) de los 51 NRs ($p = ns$). Tras finalizar el tratamiento se observó un aumento del estadio de fibrosis ≥ 1 en 3 (9%) RVSS vs 34 (56%) NRs ($p = 0,001$) y el GPVH aumentó $\geq 25\%$ respecto al basal en 1 (7%) RVSS vs 23 (43%) NRs ($p = 0,006$). Durante el seguimiento 19 (31%) NRs desarrollaron descompensación clínica (15 ascitis, 4 encefalopatía) pero ningún RVSS se descompensó ($log-rank = 0,001$). La hepatitis colestásica (OR: 1,28, $p = 0,025$) y la RVS (OR: 2,28, $p = 0,001$) se asociaron independiente con la progresión de la fibrosis y el aumento del GPVH de forma positiva y negativa, respectivamente. La RVS (OR: 20,4, $p = 0,004$) fue la única variable asociada independiente con la ausencia de descompensación.

Conclusiones: la RVS en pacientes con recidiva C tras el TH se asocia a mejores resultados clínicos al prevenir la progresión de la fibrosis y de la hipertensión portal.

P-58. PAPEL DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DEL RECEPTOR DEL INTERFERÓN ALFA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS CRÓNICA C

R. López-Rodríguez^a, M. Román^b, A. Hernández-Bartolomé, L. Rodrigo^c, M.J. Borque-Iñurrita^a, Y. Rodríguez-Muñoz^a, S. Martín-Vilchez^a, M. Trapero-Marugán^a, F. Abad-Santos^b, R. Moreno-Otero^a y P. Sanz-Cameno^a

^aUnidad de Hepatología Hospital Universitario La Princesa y CIBERehd (Instituto de Salud Carlos III). Madrid. España.

^bServicio de Farmacología Clínica. ITH. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

^cServicio de Digestivo. Hospital Central de Asturias. Oviedo. España.

Introducción: La administración de interferón-pegilado- α más ribavirina es la herramienta terapéutica más eficaz en el tratamiento de la hepatitis crónica C (HCC). Mientras que los pacientes con HCC infectados por los genotipos virales 2 y 3 tienen una tasa alta de respuesta viral sostenida (RVS), los pacientes infectados por virus C con genotipos 1 y 4 alcanzan la RVS solo en el 40% de los casos aproximadamente. El interferón-pegilado- α estimula la respuesta inmune a través de su unión con el receptor del interferón- α (IFNAR), codificado por los genes IFNAR1 y IFNAR2, y en cuya secuencia se incluyen varios polimorfismos. Estas variaciones genéticas podrían afectar a la cascada de señalización modulando la respuesta antiviral. En consecuencia, nos proponemos determinar el papel de los polimorfismos del IFNAR en la respuesta al tratamiento con interferón-pegilado- α más ribavirina.

Métodos: 167 pacientes con HCC tratados con interferón-pegilado- α más ribavirina se incluyeron en el estudio tras dar su consentimiento informado. Se determinaron los polimorfismos de los genes IFNAR1 (-408C/T y V168L) y IFNAR2 (F85 y F10V) mediante PCR. La respuesta al tratamiento se definió como respuesta viral sostenida (RVS) o no respuesta (NR) siguiendo la práctica clínica habitual. La asociación de los polimorfismos con la respuesta al tratamiento se estima mediante el test estadístico χ^2 .

Resultados: Como se ha descrito previamente, los pacientes con genotipo viral 1 y 4 mostraban una tasa menor de respuesta. ($p =$

0,001). En consecuencia, la asociación de los polimorfismos del IFNAR con la respuesta al tratamiento se analizó en dos grupos (genotipo viral 1-4 y 2-3). Los pacientes portadores del genotipo viral 1-4 mostraron una tasa de respuesta menor cuando portaban el diplotipo T/T-T/T de los polimorfismos F85 y F10V ($p < 0,05$); sin embargo la tasa de respuesta era similar a la conseguida por los pacientes con genotipo viral 2-3 cuando portaban otros diplotipos F85 y F10V. Además, los pacientes con genotipo viral 1-4 mostraban una tasa menor de respuesta asociada a los genotipos G/G y C/C de los polimorfismos V168L y -408C/T ($p < 0,05$), respectivamente.

Conclusiones: Nuestros datos sugieren que, en función del genotipo viral, los polimorfismos del IFNAR analizados pueden influir en la respuesta al tratamiento de la HCC. El incremento del tamaño muestral ayudaría a confirmar el valor pronóstico de estos polimorfismos.

P-59. LA PROLONGACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIVIRAL EN LA HEPATITIS POR VIRUS C RECURRENTE POSTRASPLANTE HEPÁTICO SIN RESPUESTA VIROLÓGICA RÁPIDA REDUCE LAS RECAÍDAS Y AUMENTA LA RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA

J.M. Pascasio, J.M. Sousa, F. Gavilán, M.T. Ferrer, M. Sayago, J. Serrano Díez-Canedo, A. Giráldez, L. Barrera, J.M. Álamo y M.A. Gómez-Bravo

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

Objetivos: Evaluar la respuesta virológica sostenida (RVS) y seguridad del tratamiento en pacientes con hepatitis por VHC recurrente postrasplante hepático, utilizando dosis plenas de interferón pegilado alfa-2a (PEG2a) y ribavirina (RBV) y duración prolongada en aquéllos sin respuesta virológica rápida (RVR).

Pacientes y métodos: Estudio de la cohorte completa de pacientes con recurrencia histológica por VHC postrasplante hepático tratados durante 48 (genotipos 1-4) o 24 semanas (genotipos 2-3). En pacientes sin RVR (4 semanas) se propuso la prolongación del tratamiento a 72 (genotipos 1-4) o 48 semanas (genotipos 2-3). Se incluyeron 46 pacientes [(4 hepatitis agudas con ictericia y/o colestasis y 42 crónicas, 60% con fibrosis (F) severa (F3-F4, índice Scheuer)], 76% genotipo 1, 65% con carga viral VHC > 800.000 UI/ml. Trece pacientes (11 genotipo 1; 2 con genotipo 3) recibieron tratamiento prolongado.

Resultados: Se observó RVR (31%), a las 12 semanas [RNA-VHC negativo, 64%; respuesta virológica precoz (RVP), 86%], al final del tratamiento (70%) y RVS (61% global; 57% en genotipo 1), respectivamente. La RVS se asoció a la negativización del RNA-VHC a las 4 (93% vs 48%; $p = 0,004$) y 12 semanas (86% vs 25%; $p = 0,04$) y a la RVP (71% vs 17%; $p = 0,018$). Sólo 1 paciente sin RVP tuvo RVS. En los pacientes sin RVR, el tratamiento prolongado incrementó la RVS (92% vs 40%; $p = 0,044$). La RVS se asoció a la carga viral baja (81% vs 50%; $p = 0,039$), pero no a la severidad de la fibrosis. La mediana de tiempo entre el trasplante y el inicio del tratamiento fue mayor en los pacientes con RVS (42 vs 16 meses; $p = 0,001$). La edad media de los donantes tendió a ser menor en los que tuvieron RVS (46 vs 51 años; $p = NS$). No hubo diferencias asociadas a la pauta de inmunosupresión. El 80%, 61%, 24% y 26% de los pacientes presentaron anemia, neutropenia, trombopenia y rechazo agudo/crónico, respectivamente; el 9% recibió Filgastrim, el 52% eritropoyetina y el 24% transfusión. El 26% de los pacientes debieron suspender el tratamiento y ello se asoció a menor RVS (33% vs 71%; $p = 0,028$). La RVS se asoció a una mayor supervivencia.

Conclusiones: 1) El tratamiento agresivo de la hepatitis por VHC postrasplante hepático, con dosis plenas de PEG2a y RBV y duración prolongada (cuando no existe RVR), permite reducir las recaídas y obtener una alta tasa de RVS, superior a las referidas con pautas de duración estándar. 2) Las variables predictivas de RVS resultan similares a las definidas en inmunocompetentes.

P-60. ANÁLISIS LONGITUDINAL DE LA EXPRESIÓN DE PD-1 EN LAS CÉLULAS CD8+ VHC-ESPECÍFICAS DURANTE EL TRATAMIENTO ANTI-VHC SEGÚN LA RESPUESTA VIROLÓGICA

J.R. Larrubia^a, S. Benito^a, J. Miquel^a, M. Calvino^a, E. Sanz-de-Villalobos^a, A. González-Praetorius^a, S. Albertos^b y T. Parra-Cid^a

^aUnidad de Hepatología Traslacional. Hospital Universitario de Guadalajara. Universidad de Alcalá. Guadalajara. España.

^bServicio de Aparato Digestivo. Fundación Jiménez-Díaz.

Universidad Autónoma. Madrid. España.

Introducción: La recuperación de reactividad de los linfocitos T citotóxicos (LTC) VHC-específicos podría desempeñar un importante papel en el desarrollo de respuesta virológica sostenida (RVS) tras tratamiento. En relación con la respuesta al tratamiento, se analizó la dinámica de la frecuencia, reactividad y fenotipo PD-1 de los LTC VHC-específicos durante el tratamiento de pacientes con hepatitis crónica por VHC (HCC).

Material y métodos: Veintidós pacientes con HCC genotipo-1 HLA-A2+ recibieron tratamiento con Peg-interferón alfa-2b y ribavirina. Se obtuvieron linfocitos de sangre periférica (SP) e intrahepáticos (IH) antes del tratamiento y de SP longitudinalmente hasta 24 semanas post-tratamiento. La frecuencia de LTC VHC-específicos se cuantificó mediante tinción con Ac anti-CD8 y complejos pentaméricos HLA-A2/péptido (pentámero). Directamente ex-vivo y tras expansión, se analizó el fenotipo PD-1 en las células CD8+/pentámero+ mediante tinción con Ac anti-PD-1. La proliferación se evaluó mediante estimulación de las células T con el péptido específico en presencia y ausencia de anti-PD-L1. Las células marcadas se analizaron mediante citometría de flujo. La RVS, recaída y no-respuesta se definió de acuerdo a la guía de consenso de la AEEH.

Resultados: De los 22 pacientes tratados: 12 desarrollaron RVS, 6 recidivaron y 4 no respondieron al tratamiento. Antes del tratamiento se detectaron directamente ex-vivo células CD8+/pentámero+ en SP en un 20% e IH en un 80% de los pacientes tratados. Estas células presentaban un fenotipo PD1 elevado en hígado y PD1 intermedio en SP y proliferaron tras estimulación específica in-vitro solamente en un 10% de casos, aunque aumento hasta el 25% tras tratamiento con anti-PD-L1. Tras el final del tratamiento se observó una recuperación de la reactividad de las células CD8+/pentámero+ en los pacientes con RVS (90%) y recaedores (80%) pero no en los no-respondedores (0%) ($p < 0,001$). Curiosamente, la expresión de PD-1 en las células CD8+/pentámero+ tras expansión era significativamente mayor en los pacientes con recaída con respecto a los sujetos con RVS ($p < 0,001$).

Conclusiones: El desarrollo de RVS tras tratamiento se correlaciona con la recuperación de reactividad de LTC VHC-específicos con baja expresión de PD-1, mientras que en los pacientes con recaída estas células tienen un fenotipo PD-1 intermedio y los no-respondedores no recuperan la respuesta citotóxica VHC-específica.

P-61. COMPORTAMIENTO DE CITOCINAS TH1 Y TH2 Y SUS POLIMORFISMOS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC) GENOTIPO 1 TRATADOS CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA

E.J. Pavón^a, P. Muñoz de Rueda^{a,b}, M.A. López-Nevot^c, J. Casado^a, A. Gil^{a,b}, J. León^{a,b}, R. Quiles^{a,b}, J.A. Muñoz^a, A. Ruiz-Extremera^{a,b} y J. Salmerón^{a,b}

^aUnidad de Aparato Digestivo. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

^bCiber Enfermedades Hepáticas y Digestivas.

^cServicio de Inmunología.

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. España.

Introducción: Las citoquinas juegan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune. En la infección por VHC una producción inadecuada de sus niveles puede afectar la respuesta al tratamiento. Ademáds se ha demostrado que ciertos polimorfismos de las citoquinas afectan a la expresión y secreción de las mismas.

Métodos: Se han determinado los niveles de expresión y los polimorfismos de las citoquinas Th1 (IFN-gamma y TNF-alfa) y Th2 (IL-6 e IL-10) en 133 pacientes con HCC, genotipo 1, tratados con IFNpeg+RBV durante 48 semanas en las siguientes muestras: basales, 12 semanas del comienzo del tratamiento y una vez finalizado el mismo. 73 pacientes (55%) presentaron respuesta virológica sostenida (RVS), 40 (30%) fueron recidivantes (RC) y 20 (15%) no respondieron (NoRVP) a las 12 semanas de tratamiento.

Resultados: En la IL-10 se observó un descenso significativo entre la basal y el postratamiento ($p = 0,023$); mientras que en el IFN-gamma presentaba diferencias significativas al comparar la basal con las 12 semanas ($p = 0,01$) y al finalizar el tratamiento ($p < 0,0001$). Haciendo un estudio estratificado por respuesta (NR (RC + noRVP) vs RVS) se demostró que únicamente la IL-10 presentaba diferencias significativas en su comportamiento por efecto del tratamiento ($p = 0,034$), ya que sus valores no se modificaron en los NR. Al individualizar a los pacientes RC, se observó un aumento del TNF-alfa al compararlos con la RVS, tanto en el basal ($p = 0,037$) como en el postratamiento ($p = 0,017$). Los factores predictivos independientes de RVS fueron la edad ≤ 40 años (ORa = 2,6, IC95% = 1,2-5,5, $P = 0,014$) y el TNF-alfa basal (ORa = 0,944, IC95% = 0,896-0,994, $p = 0,029$). Con respecto a los polimorfismos de las citoquinas, se observó en la RVP una asociación con los genotipos T/A y T/T (fenotipo High e Intermediate, respectivamente) del IFN-alfa ($p = 0,018$), así como los A/C para IL10-592 ($p = 0,016$) y C/C y T/C para IL10-819 ($p = 0,033$). La RVS se relacionaba con el genotipo C/C (fenotipo low) de la IL-6 ($p = 0,048$).

Conclusiones: En la HCC-genotipo 1, los patrones de algunas citoquinas varían ampliamente según el tipo de respuesta virológica, como expresión de una mayor respuesta inmune en los pacientes con RVS. Por otro lado, los polimorfismos de IL-6 se asocian con la RVS tanto genotípica como fenotípicamente, mientras que los polimorfismos del IFN-gamma e IL10 se relacionan con la RVP.

P-62. ULTRASECUENCIACIÓN /PIROSECUENCIACIÓN COMO HERRAMIENTA PARA EL ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LA QUASIESPECIES DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B: ESTUDIO DE UN PACIENTE TRATADO SECUENCIALMENTE CON ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS Y NUCLEÓTIDOS

F. Rodríguez Frías^{a,c}, D. Tabernero^c, J. Quer^c, R. Jardí^{a,c}, M. Schaper^c, M. Homs^c, I. Ortega^d, P. Fernández Fernández^a, R. Esteban^{b,c} y M. Buti^{b,c}

^aDepartamento de Bioquímica.

^bDepartamento de Hepatología.

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

^cCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) del Instituto Carlos III. Barcelona. España.

^dUnidad de Bioinformática y Estadística del Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: El estudio de variantes del virus de la hepatitis B (VHB) resistentes al tratamiento con análogos de nucleos(t)idos (Nucs) sólo detecta las variantes con proporciones $> 1\%$ de la quasiespecies viral. La ultrasecuenciación/pirosecuenciación (UDPS) permite el análisis de miles de secuencias, útil para detectar variantes muy minoritarias y conocer la complejidad de la quasiespecies.

Objetivos: Estudiar por UDPS la quasiespecies del VHB en un paciente con infección crónica tratado secuencialmente con Nucs

(lamivudina [LAM], adefovir [ADV] y entecavir [ETV]), en el que se detectaron resistencias a estas terapias.

Métodos: Se analizó por UDPS (GS-FLX 454/Roche) un fragmento de la polimerasa del VHB (codones 148 a 208) en muestras obtenidas al principio y al final de cada tratamiento y una muestra de 4 años antes del primer tratamiento (pre-Nucs).

Resultados: Se han obtenido 100390 secuencias. Al inicio del tratamiento con LAM se observaron bajas proporciones de variantes asociadas a resistencia a LAM (rtM204I [0,03%], rtV173L [0,03%] y rtV191I (1,08%) y ADV (rtA181T [0,05%]), frecuencias similares (0,08%, 0,05%, 0,09% y 0,59%) se observaron en las muestra pre-Nucs. Tras una respuesta inicial a LAM se observó una reactivación de la actividad viral (RV) con rtA181T como principal variante (64,1%), seguida de las variantes con más de una sustitución (combinadas): rt181AT-rtV191I (4,4%), rtL180M-rtM204V-rtV207I (1,4%) y rtA181T-rtM204V-rtV207I (1,3%); también se observó una proporción elevada de la variante rtL180M (1,9%). No hubo respuesta a ADV persistiendo rtA181T (56,5%), seguida por rtA181T-rtV191I (6,6%). Tras una primera respuesta a ETV, se produjo un RV aumentando la complejidad de la quasiespecies, detectándose una alta proporción de variantes combinadas: rtL180M-rtS202G-rtM204V-rtV207I (72,4%), rtL169T-rtV173L-rtL180M-rtM204V (10%) y rtL169T-rtV173L-rtL180M-rtS202G-rtM204V+rtV207I (4,6%).

Conclusiones: La UDPS permite analizar cuantitativamente la evolución de la quasiespecies VHB bajo el efecto de las terapias antivirales, detectándose variantes combinadas y de muy baja frecuencia ($\leq 0,03\%$). No se observaron cambios en la quasiespecies en ausencia de terapia antiviral. La variante rtA181T, la más frecuente en las quasiespecies basal, fue la principal responsable del fallo de los tratamientos con LAM y ADV. Las variantes combinadas son seleccionadas preferentemente como resistentes a la terapia con ETV.

P-63. LA INDIVIDUALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO Y LA ATENCIÓN MULTIDISCIPLINAR AUMENTAN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C

M. García-Retortillo^a, I. Cirera^a, N. Cañete^a, M.D. Giménez^a, C. Márquez^a, P. Castellví^a, R. Navinés^c, A. Castaño^b, O. Urbina^d, E. Salas^d, S. Coll^a, F. Bory^a, R. Martín-Santos^c y R. Solà^a

^aSección de Hepatología. Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

^bServicio de Psiquiatría. Hospital del Mar. Barcelona. España.

^cDepartamento de Psiquiatría y CIBERSAM. Institut Clínic de Neurociències. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. España.

^dServicio de Farmacia. Hospital del Mar. Barcelona. España.

Introducción: Algunos estudios han confirmado la eficacia de la individualización del tratamiento de la hepatitis C (HCC), aumentando su duración en pacientes sin respuesta virológica rápida (RVR). Por otra parte, los sistemas de apoyo basados en la atención multidisciplinar, aumentan la adherencia al tratamiento y como consecuencia su efectividad. El objetivo del presente estudio es analizar la eficacia conjunta de ambas estrategias en la práctica clínica habitual.

Métodos y resultados: Hemos incluido 395 pacientes consecutivos con HCC que iniciaron tratamiento con IFN PEG alfa-2a (180 µg) y ribavirina (RBV) (1000-1200 mg, 48 semanas G1/4 y 800 mg, 24 semanas G2/3) desde 2002 a 2008. Los pacientes se han dividido en 3 grupos: Grupo 1, tratamiento con control convencional (2002-2005); Grupo 2, tratamiento realizado en un programa de atención multidisciplinar (PAM) previamente descrito (2005-2006); Grupo 3, a los que, además de estar incluidos en el PAM, se les ofrecía la posibilidad de aumentar la duración del tratamiento (72 semanas en genotipo 1/4 o 48 semanas en genotipo 2/3) si no presentaban RVR (2007-2008). Se consideró la adherencia al tratamiento cuando

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	P
Pacientes	147	131	117	
RVS global (%)	61,9	77,1	83,8	0,0002
RVS G 1/4 (%)	48,9	66,7	71,2	0,01
RVS G 2/3 (%)	81,4	87,7	93,8	0,1
Recidiva (%)	22,2	13,7	5,8	0,002
Adherencia (%)	78,9	94,6	88,8	0,0004

los pacientes recibieron el 80% de la dosis total prescrita de ambos fármacos. Se realizó extensión del tratamiento en 29 de 37 pacientes del grupo 3 que no presentaron RVR y negativizaron el ARN VHC en la semana 24. La tasa de RVS en ellos fue del 89,6% (G1/4: 87% y G2/3: 100%).

Conclusiones: La aplicación conjunta de medidas de soporte multidisciplinar y la individualización de la duración del tratamiento aumentan la eficacia del tratamiento de la hepatitis C sin una clara repercusión en la adherencia. La mejor tasa de respuesta que consigue la individualización de la duración del tratamiento se debe a una reducción en la tasa de recidiva.

P-64. ESTUDIO OBSERVACIONAL, PROSPECTIVO DE SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN ALFA 2A PEGILADO ASOCIADO A RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA GENOTIPO 1 CON NIVELES NORMALES DE ALT. ANÁLISIS FINAL DE EFICACIA

J.L. Calleja^a, B. Ruiz-Antorán^a, J. García-Samaniego^b, R. Morillas^c, R. Moreno^d, J.C. Erdozaín^e, R. Martín-Vivaldi^f, D. Suárez^g, L. Grande Santamaría^h, R. Soláⁱ, F. Baños^j, M. Miras^k, M.A. Álvarez^l, A. Castro^m, M. Jiménez Pérezⁿ, M. Vergara Gómez^o, B. Peñas^a, L. Bonet^a, J. Salmerón^p, M. Moreno^q, F. Jorquera^r y J. de la Revilla^a, por el Grupo Español para el Manejo de la Infección por VHC y Transaminasas Normales

^aHospital Puerta de Hierro. Madrid. España.

^bHospital Carlos III. Madrid. España.

^cHospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

^dHospital La Princesa. Madrid. España.

^eHospital del Norte. Madrid. España.

^fHospital Virgen de las Nieves. Granada. España.

^gHospital Arquitecto Marcide. A Coruña. España.

^hHospital de Valme. Sevilla. España.

ⁱHospital del Mar. Barcelona. España.

^jConsorci Sanitari Integral de L'Hospitalet. Barcelona. España.

^kHospital Virgen Arrixaca. Murcia. España.

^lHospital Altahia. Manresa. Barcelona. España.

^mHospital Juan Canalejo. A Coruña. España.

ⁿHospital Regional Carlos Haya. Málaga. España.

^oHospital Parc Taulí. Sabadell. Barcelona. España.

^pHospital Son Dureta. Baleares. España.

^qHospital San Cecilio. Granada. España.

^rHospital General de Fuerteventura. Tenerife. España.

^sHospital de León. León. España.

Introducción: Del 25 al 46% de los pacientes con hepatitis C crónica tienen niveles de transaminasas normales. El estudio que permitió avalar el tratamiento de estos pacientes con transaminasas normales utilizó dosis de ribavirina de 800 mg/día. Sin embargo la dosis actual recomendada es de 1000-1200 para genotipos 1 y 4. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta al tratamiento con Peginterferón alfa-2a asociado a ribavirina a dosis estándar (1000-1200 mg/día) en la erradicación del virus C genotipo 1y 4. En este estudio se ha evaluado la respuesta virológica rápida (RVR: ARN-VHC < 50 IU/ml en semana 4), la respuesta virológica precoz

(RVP: ARN-VHC negativo o disminución > 2 log en semana 12 de tratamiento), y la respuesta virológica sostenida (RVS: persistencia de la respuesta completa en las 24 semanas post tratamiento).

Métodos: Estudio multicéntrico, observacional, prospectivo de seguimiento del tratamiento con interferón alfa-2a pegilado + ribavirina. Se incluyeron pacientes de ambos性os entre los 18 y 70 años, con evidencia de infección por VHC genotipo 1 y 4 y con cifras de ALT normales (< 40 UI/ml) durante al menos 2 ocasiones en los últimos 12 meses.

Resultados: Se incluyeron un total de 170 pacientes (57 varones, 113 mujeres). Un 67,4% de los pacientes presentaba cargas virales basales > 600.000 IU/ml, con una carga viral media de 2.986.269 IU/ml (+7.462.170 IU/ml). La respuesta viral rápida (RVR) fue del 30,8%. La tasa de RVR fue mayor en pacientes con carga viral baja (48,7% vs 22,5%) ($p < 0,05$). La tasa de pacientes con respuesta viral precoz (RVP) ha sido de 89,9% sin observarse diferencias significativas entre los pacientes con carga viral alta y baja. La tasa de respuesta viral sostenida (RVS) fue del 56,5%. El subgrupo de pacientes con carga viral inicial baja (< 600.000 IU/ml), presentó una RVS significativamente mayor (69,1% vs 50,9%, $p < 0,05$). La RVS en el subgrupo con niveles de ALT < 30 UL en hombres y 19 UL en mujeres fue mayor en este grupo (70,8% vs 54,1% $p < 0,05$).

Conclusiones: En pacientes con infección crónica por virus C y ALT normal el tratamiento con Peginterferón alfa 2^a y ribavirina consigue una tasa de RVS del 56,5%. Esta tasa de RVS, conseguida con dosis estándar de ribavirina, es superior a la publicada en los estudios de registro con dosis bajas de ribavirina. En pacientes con niveles de ALT < 30 UL (hombres) y < 19UL (mujeres), la tasa de respuesta a las 72 semanas fue significativamente mayor que en los pacientes con ALT normal (< 40 UL).

P-65. EN PACIENTES NAÍVE CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC) GENOTIPO 1 LA ADMINISTRACIÓN DE RIBAVIRINA SEGÚN PESO (RBV) DURANTE CUATRO SEMANAS SEGUIDA DE RBV MÁS INTERFERÓN PEGILADO α -2A (IFN-PEG) DURANTE 48 SEMANAS NO AUMENTA LA TASA DE RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA (RVS)

J. Salmerón^{a,b}, A. Gila^{a,b}, P. Muñoz Rueda^{a,b}, R. Quiles^{a,b}, A. Martín^a, A. Carazo^a, J.A. Muñoz^a, E.J. Pavón^a, A. Palacios^{a,b}, D. Quintero^{a,b} y A. Ruiz-Extremera^{a,b}

^aUnidad de Aparato Digestivo. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

^bCiber Enfermedades Hepáticas y Digestivas.

Introducción: Se sabe que la RBV asociada al IFN-Peg disminuye las recidivas postratamiento. No obstante, por el momento se desconoce si la RBV administrada antes del tratamiento combinado puede aumentar la tasa de RVS. En un estudio piloto, sin grupo control, en 10 pacientes no respondedores al IFN-Peg y RBV, presentado en forma oral en el AASLD (2009) por Brillanti et al, observaron que el 50% presentaba una RVS si se administraba la RBV durante un mes antes del tratamiento estándar de 48 semanas.

Objetivos y resultados: Estudiar la tasa de RVS en 27 pacientes naïve con HCC-genotipo 1 tratados con RBV según peso durante 4 semanas seguido de IFN-Peg y RBV durante 48 semanas (grupo A). El grupo A fue comparado con un grupo histórico de 27 pacientes, sin RBV previa, tratados con IFN-Peg α -2a y RBV durante 48 semanas (grupo B), que presentaban las mismas características basales (edad, sexo, carga viral y fibrosis e inflamación hepática). Al seleccionar a los pacientes del grupo B se desconocía el tipo de respuesta virológica. En el grupo A, la tasa de RVR (rápida, 4 semanas después del IFN-Peg y RBV), RVP a las 12 semanas (RVP) y la RVS fue del 53%, 89% y 52%; mientras que en el grupo B fue del 53%, 89% y 48%, respectivamente. Las diferencias no fueron estadísticamente

significativas. En el grupo A, al estudiar la carga viral se observó una reducción significativa ($p = 0,01$) durante las 4 semanas del tratamiento con RBV, aunque ésta fue menor si se comparaba con la reducción a las 4 semanas después de introducir el IFN-Peg ($p = 0,02$). Otro aspecto interesante es que los pacientes del grupo A con una disminución de la carga viral ≥ 600.000 UI/ml después de la RBV tenían más posibilidades ($p = 0,01$) de presentar una RVS (71%) que los pacientes con una menor disminución de la carga viral (< 600.000 UI/mL, RVS = 11%).

Conclusiones: En pacientes naïve con HCC-genotipo 1, la administración de RBV durante 4 semanas seguido del tratamiento estándar durante 48 semanas no mejora la tasa de RVS.

P-66. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C ALTERA LA EXPRESIÓN Y LOCALIZACIÓN DE LAS TETRASPINAS CD81 Y CD151

P. Sanz-Cameno^a, R. López-Rodríguez^a, M.J. Borque^b, S. Martín-Vilchez^a, Y. Rodríguez-Muñoz^a, A. Hernández-Bartolomé^a, P. Majano^b, R. Aldabe^c y R. Moreno-Otero^a

^aUnidad de Hepatología. Hospital Universitario La Princesa y CIBERehd (Instituto de Salud Carlos III). Madrid. España.

^bUnidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. España.

^cCIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: Nuestro grupo ha descrito recientemente la implicación de los microdominios de membrana celular enriquecidos en tetraspinas (TEMs) en la infección por el virus de la hepatitis C (VHC). Además, hemos caracterizado la influencia del VHC en la expresión y localización celular de la proteína de las uniones intercelulares estrechas, Ocludina, así como su participación en la infección viral. Debido a que diversos correceptores del VHC se encuentran en dominios TEMs, y a que dichos dominios regulan importantes funciones celulares (adhesión, migración y proliferación, entre otras), el OBJETIVO de este trabajo fue analizar la influencia del VHC en la expresión y funcionalidad de los TEMs.

Material y métodos: Los niveles de expresión de las tetraspinas CD9, CD81 y CD151 fueron analizados mediante ensayos de Western Blot y citometría de flujo en diversos replicones genómicos (5 clones) y subgenómicos (3 clones que expresaban únicamente la región no estructural del virus) del VHC, así como en la línea celular parental Huh7. La localización celular de las citadas tetraspinas, de las proteínas virales E2 y NS5A, y del marcador subapical, MAL-2, fue analizada por inmunofluorescencia.

Resultados: Mientras que los niveles de expresión de las tetraspinas analizadas fueron similares tanto en la línea Huh7 como en los distintos replicones del VHC en los ensayos de Western Blot, el análisis por citometría de flujo reflejó un marcado descenso de su expresión en la superficie de las células que expresaban el virus. Los experimentos de inmunofluorescencia revelaron el acúmulo intracelular de CD81 y CD151 en los replicones virales frente a la línea parental Hu7h, que mostraba un claro patrón de expresión de membrana celular. De forma interesante, la localización subapical de la proteína MAL-2 en la línea Huh7 se perdió en la mayoría de los replicones del VHC estudiados.

Conclusiones: La deslocalización en la expresión celular de las tetraspinas analizadas y la pérdida de la polaridad celular observada en los replicones del VHC pueden reflejar importantes disfunciones celulares debidas a la desorganización de los TEMs. Estos resultados pueden ser de gran relevancia para la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos asociados a la hepatitis crónica C.

P-67. BAJO RIESGO DE PROGRESIÓN A CIRROSIS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C QUE OBTIENEN RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA TRAS EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

S.M. Martínez, N. Tesei, E. Martínez-Bauer, S. Ampurdanés, J.M. Barrera, M. Bruguera, J.M. Sánchez-Tapias y X. Forns

Unidad de Hepatología. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. IDIBAPS. Ciberehd. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: La finalidad del tratamiento antiviral en pacientes con hepatitis crónica C (HCC) es interrumpir la progresión de la enfermedad y, particularmente, prevenir el desarrollo de cirrosis hepática. Para analizar el efecto del tratamiento antiviral en la progresión de la enfermedad, un total de 896 pacientes con HCC no cirróticos, tratados en nuestra unidad (355 con interferón monoterapia y 541 con interferón/interferón pegilado más ribavirina) desde mayo de 1990 a abril de 2003, fueron incluidos en el estudio.

Métodos: El seguimiento fue realizado mediante analítica sanguínea y ecografía abdominal, por un periodo de 67 meses de media, tras finalizar el tratamiento antiviral. Basalmente, la fibrosis hepática fue leve o ausente en 75% de los pacientes, y significativa (F2-3) en el 25% restante. La mayoría de los pacientes estaban infectados con el genotipo 1 del virus C.

Resultados: Se obtuvo respuesta virológica sostenida (RVS) en 392 (44%) pacientes tratados. En 103 (11%) pacientes se desarrolló cirrosis hepática (diagnosticada por biopsia hepática o por criterios clínicos, analíticos, endoscópicos y ultrasonográficos). En 25 de los 103 pacientes (24%) ocurrió descompensación clínica o carcinoma hepatocelular. Mediante regresión de Cox, las variables independientemente asociadas con el desarrollo de cirrosis hepática fueron la edad > 40 años (Hazard Ratio HR = 1,01), fibrosis significativa (HR = 2,5) y no respuesta sostenida al tratamiento (HR = 5,2). Sólo 7 (2%) de los 392 pacientes que obtuvieron RVS desarrollaron cirrosis. Entre los no respondedores, la edad > 40 años (HR = 1,1) y la fibrosis significativa (HR = 3,8) se asociaron independientemente con el desarrollo de cirrosis y descompensación clínica. La incidencia anual de cirrosis en no respondedores (3,3%) aumentaba a 5% en mayores de 40 años y hasta un 8% si además tenían fibrosis significativa.

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que en pacientes con HCC la eliminación viral previene el desarrollo de cirrosis hepática. Los pacientes que no obtienen RVS y de edad superior a 40 años tienen un riesgo significativo de progresión a cirrosis.

P-68. VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN DE LA PROTEASA NS3 DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN PACIENTES VHC/VIH TRATADOS CON INHIBIDORES DE LA PROTEASA DEL VIH

M. Botteccchia, A. Madejón, M. Sánchez-Carrillo, P. Labarga, I. Martín, J. García-Samaniego y V. Soriano

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

Introducción: La rápida selección de mutaciones de resistencia es uno de los aspectos que limitan el desarrollo de nuevos fármacos frente al virus de la hepatitis (VHC). Datos preliminares sugieren que los inhibidores de la proteasa (IPs) del VIH pueden inducir cambios en la proteasa del VHC que comprometen la susceptibilidad a los nuevos antivirales. Por este motivo, el objetivo del estudio fue investigar los cambios en la secuencia de la región NS3 del VHC en pacientes VHC/VIH tratados con IPs del VIH.

Métodos: Se incluyeron en el estudio 22 pacientes (73% varones; 59% ADVP) con coinfección VHC (genotipo 1) y VIH tratados con IPs

(atazanavir y lopinavir/ritonavir). Se analizaron 2 muestras de cada paciente: la primera obtenida antes del inicio de la terapia con IPs y la segunda después de al menos 6 meses de tratamiento. En todos los casos se analizó la región codificante de los primeros 300 aminoácidos de la actividad NS3 mediante secuenciación directa del producto amplificado (Trugene, Siemens).

Resultados: En todos los pacientes se identificaron cambios de aminoácidos en la región codificante de la proteasa NS3 entre la muestra pre y post-terapia, localizados en 6 posiciones (aminoácidos 40, 46, 80, 86, 89 y 91). En 1 paciente, se detectó un cambio en la posición 156P, una posición susceptible de inducir desarrollo de resistencia a IPs del VHC, aunque el cambio de aminoácido identificado no se corresponde con las mutaciones de resistencia descritas. En 3 pacientes se identificaron, tanto en la muestra basal como final, cambios de aminoácido en posiciones relacionadas con el desarrollo de resistencia. En 2 de ellos los cambios se localizaban en las posiciones 39V y 170M, respectivamente, aunque no se correspondían con las mutaciones de resistencia previamente descritas. En el paciente restante se identificó una mutación de resistencia de nivel medio a telaprevir y boceprevir (posición 54S). La aparición de dicha mutación no se asociaba al tratamiento con IPs, ya que fue detectada tanto en la muestra basal como en la final.

Conclusiones: El uso de IPs del VIH no parece seleccionar variantes de resistencia a los inhibidores de la proteasa del VHC. Este comportamiento puede explicarse por las diferencias en la estructura de ambas proteasas. No obstante, sería necesario profundizar en el análisis de los nuevos cambios de aminoácidos localizados en posiciones asociadas a resistencia, una de las cuales (156P) apareció durante el tratamiento.

P-69. EL TRATAMIENTO CON PEGINTERFERÓN ALFA-2A + RIBAVIRINA EN PACIENTES CON CIRROSIS VHC E HIPERTENSIÓN PORTAL REDUCE DE FORMA PRECOZ EL GRADIENTE DE PRESIÓN PORTAL

M. García-Retortillo, D. Rincón, A. Albillas, J. Colmenero, R. Bataller, J.L. Calleja, R. Bañares, J.G. Abraldes, J. Bosch, J.M. Sánchez-Tapias, X. Forns y J.C. García-Pagán

Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Barcelona. España. Hospital Gregorio Marañón. Madrid. España. Hospital Puerta de Hierro. Madrid. España. Hospital Ramón y Cajal. Ciberehd. Madrid. España.

Introducción: En pacientes con cirrosis hepática compensada, un gradiente de presión portal (GPP) > 10 mmHg (hipertensión portal clínicamente significativa; HTPCS) se asocia a un mayor riesgo de descompensación y peor pronóstico. Los pacientes con cirrosis compensada VHC son tributarios de tratamiento antiviral combinado con peginterferón + ribavirina. Datos preliminares sugieren un efecto beneficioso del tratamiento antiviral sobre el GPP.

Objetivos: Evaluar el efecto del tratamiento con peginterferón alfa-2a 180 ug semanal + ribavirina diaria (Peg + Riba) sobre el GPP a corto y largo plazo en pacientes con cirrosis VHC e HTPCS.

Pacientes y métodos: En 30 pacientes con cirrosis hepática compensada e HTPCS tratados con Peg + Riba se determinó el gradiente de presión portal (GPP) basalmente y a las 12 semanas de tratamiento. En 15/17 pacientes con respuesta virológica precoz (RVP: disminución > 2log de la carga viral a la semana 12) se determinó nuevamente el GPP 6 semanas después de completar 48 semanas de tratamiento. En 9 de estos pacientes se logró respuesta virológica sostenida (RVS) y en 6 no. En 5/13 pacientes sin RVP, se midió nuevamente el GPP tras un periodo observacional semejante.

Resultados: El 80% eran hombres, la edad media 52 ± 9 años, un 87% eran genotipo 1 y la carga viral basal log 10 6,08 ± 0,66. En la semana 12, el GPP descendió de forma significativa de 15,5 ± 3,8 a 13,9 ± 3,3 mmHg ($p < 0,001$) con un descenso medio del 9,1 ± 13%.

En 13 pacientes, el descenso fue > 10% o por debajo de 10 mmHg (GPP respondedores). La carga viral basal ($6,5 \pm 0,3$ vs $5,7 \pm 0,7$; $p = 0,001$) y el descenso de la carga viral y de ALAT en la semana 12 fue mayor en los GPP respondedores que en los no respondedores ($-4,2 \pm 2,2$ vs $-2,6 \pm 2$; $p = 0,03$ y -102 ± 74 vs -49 ± 71 UI/L; $p = 0,06$). En el cateterismo a las 6 semanas de finalizar el tratamiento, en los 9 pacientes con RVS, se mantuvo el descenso en el GPP ($12,9 \pm 2,8$ mmHg (12s) a $12,2 \pm 3,5$; $p = 0,2$), mientras que aumentó en los 6 que no lograron RVS (desde $14 \pm 3,7$ mmHg a $15,8 \pm 5,6$; $p = 0,1$) o en los 5 pacientes del grupo sin RVP ($12,8 \pm 3$ mmHg a $13,9 \pm 2,5$; $p = 0,3$).

Conclusiones: El tratamiento con Peg + Riba logra un descenso precoz en el GPP que es más evidente en los pacientes con RVP y se mantiene en los pacientes con RVS.

P-70. MODELO IN VITRO DE REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB): EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD REPLICATIVA VIRAL MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HBsAg Y DE ADN VIRAL

M. Schaper^c, J. Quer^c, M. Buti^{b,c}, M. Homs^c, D. Tabernero^c, R. Jardi^{a,c}, P. Fernández^a, R. Esteban^{b,c} y F. Rodríguez Frías^{a,c}

^aServicio de Bioquímica Clínica.

^bServicio de Hepatología.

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

^cCIBEREHD.

Introducción: La mayor limitación del tratamiento antiviral con análogos de núcleos(t)idos en los pacientes con hepatitis crónica B es la emergencia de cepas del VHB resistentes a los antivirales. El desarrollo de ensayos fenotípicos in vitro representa una importante herramienta para establecer las características cualitativas y cuantitativas de las resistencias a antivirales.

Objetivos: Desarrollar un modelo in vitro para estudiar la replicación del VHB, mediante la transfección de células de hepatoma Huh7 con el genoma completo del VHB insertado en un plásmido recombinante.

Métodos: A partir de muestras de suero de 2 pacientes con Hepatitis B se amplificó mediante PCR un fragmento de 3,5 kb ($1,1 \times$ longitud del genoma del VHB). Este fragmento se insertó en el plásmido pTriEx-Mod. (Durantel et al. Hepatology. 2004;40:855-64). Se transfecaron las células Huh7 y la replicación del VHB se midió a los 6 días en el sobrenadante del cultivo mediante cuantificación de HBsAg (Abbott) y ADN-VHB (Roche diagnostic) por PCR en tiempo real.

Resultados: Se ha analizado la capacidad replicativa de un clon por cada paciente: un Wild type (WT) sin cambio de aminoácidos asociados con resistencias a análogos de nucleós(t)idos y un clon con la variante rtA181T (MT) resistente a lamivudina/adefoviro y que produce un codón stop (sW172stop) en la proteína S solapada con la secuencia de la retrotranscriptasa. En el caso WT se detectó HBsAg (70-80 UI/mL) y ADN-VHB (108 UI/mL), mientras que en MT, se observaron niveles de HBsAg de 5-9 UI/mL y 108 UI/mL de ADN-VHB. En todos los experimentos se transfecaron 2 ug de ADN-VHB (1012 copias/mL de cultivo) por lo que a pesar del lavado intenso de las células, los cultivos usados como controles negativos, mostraron niveles de ADN-VHB del orden de 104 UI/mL en el sobrenadante.

Conclusiones: Estos resultados muestran que el genoma del VHB aislado de muestras clínicas se puede expresar y replicar de forma eficiente en células Huh7. Este ensayo permite la evaluación de la capacidad replicativa in vitro de diferentes variantes del VHB aisladas de muestras clínicas mediante la cuantificación de HBsAg y ADN-VHB. La detección simultánea de HBsAg y ADN-VHB, a pesar de la presencia de un codón "stop" en el gen de envoltura viral indica que esta proteína truncada es funcional para la formación de partículas virales.

P-71. VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN CODIFICANTE DE EPÍTOPOS INMUNOGENÍCOS Y ELEMENTOS REGULADORES DEL ANTÍGENO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS DELTA: INFLUENCIA DE LA COINFECCIÓN POR VIH

A. Madejón, M. Bottecchia, E. Vispo, M. Sánchez-Carrillo, M. Romero, I. Martín, J. García-Samaniego y V. Soriano

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

Introducción: El estatus inmunológico de los pacientes ejerce un importante papel sobre la variabilidad genética y la historia natural de las infecciones virales crónicas. El objetivo del presente estudio fue analizar la variabilidad de la región carboxi-terminal del antígeno del virus de la hepatitis delta (HDAg), donde se localizan elementos reguladores clave que incluyen epítopos de CD4 y CD8-CTL, en pacientes con o sin infección por VIH.

Pacientes y métodos: Se incluyeron muestras puntuales de suero de 16 pacientes con hepatitis crónica delta (8 VIH-positivos). Todas las muestras se obtuvieron antes del inicio de la terapia antiviral. Se amplificó la región codificante de los aminoácidos 100-214 del HDAg y los amplicones obtenidos se analizaron mediante secuenciación directa. El análisis de las secuencias se realizó utilizando los paquetes informáticos SeqMan y ClustalX.

Resultados: El grado de homología entre las secuencias de VHD fue mayor dentro del grupo de pacientes coinfecados por VIH que en los monoinfectados por VHD [distancia evolutiva (media + DE): $0,083 + 0,13$ vs $0,052 + 0,022$]. Las diferencias más importantes se localizaron en la región codificante de un epítopo de células T-CD4+ (aa 114-122) más conservada en los pacientes VIH positivos que en los negativos [posiciones conservadas: 8/9 (89%) vs 6/9 (67%, respectivamente)]. Las diferencias más acusadas se localizaron en dos posiciones específicas: todos los pacientes VIH-positivos presentaban una alanina en posición 117, mientras que esta posición fue mucho más variable en los VIH-negativos (Gly en 2, Ala en 3 y Ser en 3 pacientes, respectivamente). Con respecto a la posición 120, todos los pacientes VIH-negativo presentaban una lisina, mientras que en los coinfecados se encontró arginina en 5 pacientes y lisina en 3, respectivamente. No se encontraron cambios en regiones esenciales de regulación como la posición de isoprenilación, señales de fosforilación o epítopos de CD8-CTL.

Conclusiones: La coinfección por VIH se asocia a una menor variabilidad genética de la región codificante del HDAg y ello probablemente se debe a una menor presión inmunológica. Las mayores diferencias entre pacientes con y sin coinfección por VIH se localizaron sobre una región codificante de epítopo de las células T-CD4+. Se debe analizar el efecto de la recuperación de las cifras de linfocitos CD4 sobre la variabilidad genética del VHD y la evolución de la enfermedad hepática en pacientes con coinfección VHD/VIH.

P-72. ¿INFLUYE EL NIVEL DE ADN-VHB PRE-TH EN LA RECURRENCIA Y SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES TRASPLANTADOS POR VHB SI SE UTILIZA HBIG Y ANTIVIRALES ORALES?

I. Campos-Varela^{a,d}, L. Castells^{a,d}, V. Vargas^{a,d}, F. Rodríguez-Frías^{b,d}, I. Bilbao^{c,d}, M. Caralt^c, M. Buti^{a,d}, R. Charco^c, R. Esteban^{a,d} y J. Guardia^{a,d}

^aUnidad de Hepatología.

^bLaboratorio de Bioquímica.

^cUnidad de Trasplante Hepático.

^dCIBEREHD.

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Objetivos: Analizar el valor pronóstico de los niveles de DNA-VHB en el momento del TH y el efecto del tipo de profilaxis en el riesgo de recurrencia del VHB y la supervivencia post-TH.

Métodos: Se han analizado 859 pacientes trasplantados en nuestro centro entre 1988-2008 y se han incluido los casos por VHB con determinación de DNA-VHB por PCR en tiempo real (límite de detección 12 UI/ml), realizándose de forma retrospectiva en los pacientes en los que se disponía de suero congelado a -80 °C. Se analiza la supervivencia y la recurrencia según los valores de DNA-VHB en el momento del TH (DNA < 103 vs DNA > 103) y según las pautas de profilaxis realizadas (HBIG vs vid + análogos de nucleósidos).

Resultados: Se trasplantaron 60 (7%) pacientes por hepatopatía crónica por VHB y de ellos, en 49 (82%) casos se disponía del DNA-VHB por PCR. El HBeAg fue positivo en 9 (18%) casos, los anticuerpos antiVHC en 9 (18%) casos, los anticuerpos antidelta en 16% (8) y por VIH en 2% (1) de los pacientes. Los niveles de DNA fueron < 103 UI/ml en el 80% (39/49) y > 103 UI/ml en el 20% (10/49) y recibieron HBIG el 14% (7/49) y vid + NUCs el 86% (42/49). Doce (24%) pacientes fallecieron post-TH. Cinco (10%) por recurrencia del VHB (4 en profilaxis con HBIG y 1 con HBIG+NUCs). En el análisis univariado los factores asociados con mayor mortalidad fueron los niveles de DNA-VHB pre-TH ($p = 0,008$), la pauta de profilaxis frente al VHB ($p < 0,0001$), el fármaco anticalcineurínico ($p = 0,05$) y la recurrencia del VHB post-TH ($p = 0,015$). El análisis multivariado mostró como única variable independiente de mortalidad el tipo de profilaxis. La profilaxis con HBIG se asoció con una HR de 7 (IC95% 2,2-22,6), ($p = 0,001$). La supervivencia a 3 y 5 años fue de 40 y 30% respectivamente, para el grupo que recibió HBIG, comparado con un 90 y 85% para el grupo que recibió HBIG + NUCs. La recurrencia del VHB fue de 16% (8): 71% (5/7 casos) con profilaxis con HBIG y 7% (3/42) con HBIG + NUCs ($p < 0,0001$). En el análisis univariado los factores asociados con la recurrencia del VHB post-TH fueron los niveles de DNA pre-TH ($p = 0,004$), la pauta de profilaxis ($p = 0,001$), y el fármaco anticalcineurínico ($p = 0,044$). El análisis multivariado mostró como única variable independiente de recurrencia la administración de HBIG con una HR de 27 (95% IC 5,2-147,2), ($p < 0,0001$).

Conclusiones: Los niveles de DNA-VHB determinados por PCR no influyen en el riesgo de recurrencia ni de mortalidad asociada al VHB cuando se administra HBIG + NUCs.

P-73. LOS ÍNDICES PREDICTIVOS NO INVASIVOS DE FIBROSIS HEPÁTICA (ÍNDICE FORNS, APRI Y NIHCED) SON FACTORES PREDICTORES DE EVOLUCIÓN A CIRROSIS EN LA HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C EN EL SEGUIMIENTO A LARGO PLAZO. RESULTADOS PRELIMINARES

G. Bejarano^a, M. Vergara^{b,f}, B. Dalmau^{b,f}, M. Gil^{b,f}, M. Miquel^{b,f}, J. Sánchez^{b,f}, M. Casas^b, E. Martínez-Bauer^b, J. Puig^c, M.R. Bella^d, D. Suárez^e y X. Calvet^{a,f}

^aMedicina Interna. Hospital de Mataró. Mataró. Barcelona. España.
^bServicio de Digestivo.

^cUDIAT.

^dServei de Anatomía Patológica.

^eServicio de Epidemiología. Corporación Sanitaria Parc Taulí. Universidad Autónoma de Barcelona. Sabadell. Barcelona. España.
^fCIBERhEd. Instituto Carlos III. Madrid. España.

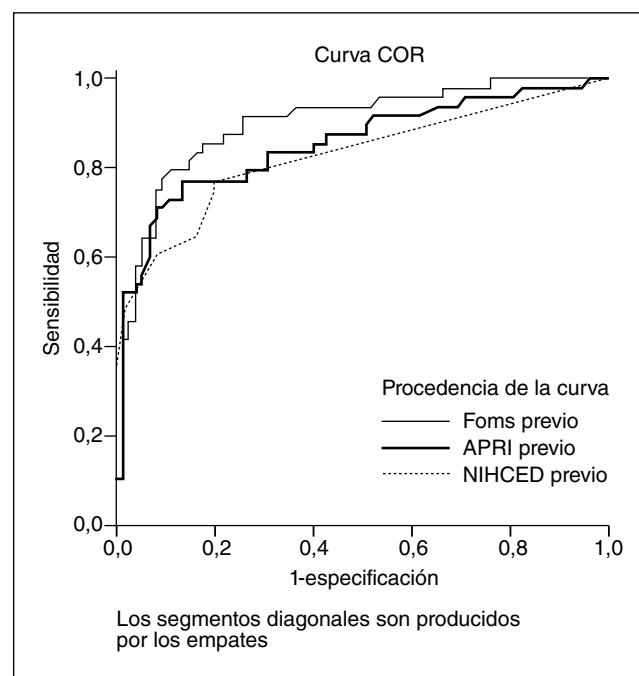


Figura 1

Introducción: No se ha realizado ningún estudio que analice la capacidad para predecir la evolución a cirrosis hepática de los índices predictivos no invasivos de fibrosis hepática (IPNI) durante el seguimiento.

Objetivos: Analizar la capacidad de predicción de evolución a cirrosis del índice de Forns, APRI y NIHCED (Sabadell's non invasive Hepatitis C Early Diagnosis).

Material y métodos: Estudio longitudinal en el que se incluyeron todos los pacientes monoinfectados con hepatitis crónica por virus C con biopsia hepática realizada entre 1993 y 2003. Criterios de exclusión: otras enfermedades hepáticas concomitantes, adicción a alcohol u otras drogas, cirrosis hepática en la biopsia basal. Los pacientes se evaluaron nuevamente entre septiembre de 2008 y septiembre de 2009 con historia clínica, exploración física, analítica y ecografía hepática. Se calcularon los índices de Forns, APRI y NIHCED. A todos los pacientes se les repitió la biopsia hepática excepto en aquellos con criterios de hipertensión portal (ascitis o varices esofágicas), o en aquellos en que todos los IPNI indicaban ausencia de fibrosis o expansión portal (F0-F1). Se realizaron curvas ROC comparando los IPNI en el momento de la primera biopsia con el grado de fibrosis en la actualidad. Se calculó el punto de corte de cada IPNI con mayor sensibilidad (S) y especificidad (E) para predecir evolución a cirrosis.

Resultados: Se incluyeron 123 pacientes con una edad media de 59,86 años \pm 12,7 (X \pm DE). Un 43,9% eran hombres. El tiempo medio de seguimiento fue de 10,42 \pm 2,89 años (5,32-16,65). En la biopsia basal, un 47,1% tenía fibrosis significativa y un 52,8% no tenía fibrosis o sólo expansión portal. En la actualidad, un 39% tie-

Tabla Curvas ROC para la capacidad de predicción de cirrosis de los índices predictivos indirectos

	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Área bajo la curva
Índice Forns	5,4	92%	73%	69,8	0,90
APRI	0,8	83%	69%	64,9	0,85
NIHCED	3	77%	80%	71,2	0,83

ne cirrosis, un 30,1% fibrosis avanzada y 30,9% ausencia de fibrosis o expansión portal. Un índice de Forns de 5,4 predice evolución a cirrosis con una S del 92%, una E del 73% y un área bajo la curva (ABC) de 0,90, con un 69,8% de los pacientes con cirrosis. El índice APRI, para un punto de corte de 0,8 tiene una S de 83%, una E del 69% y un ABC de 0,85, con un 64,9% de los pacientes con cirrosis. Y el NIHCED con un punto de corte de 3, tiene una S de 77%, una E de 80% y un ABC de 0,83 con un 71,2% de los pacientes con cirrosis.

Conclusiones: Los índices predictivos no invasivos pueden ayudar a predecir la evolución a cirrosis de los pacientes con hepatitis crónica por virus C.

P-74. LA RESPUESTA CITOCÍNICA TH1 INDUCIDA POR PEG-IFN MÁS RIBAVIRINA CONTROLA LA REPLICACIÓN VIRAL EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C GENOTIPO 1

M. Trapero-Marugán^{a,d,e}, Y. Rodríguez-Muñoz^b, R. López Rodríguez^b, S. Martín-Vilchez^{b,d}, C. Muñoz^{c,d}, M.J. Borque^b, M. Chaparro^a y R. Moreno-Otero^{a,d,e}

^aServicio de Aparato Digestivo.

^bUnidad de Biología Molecular.

^cServicio de Inmunología. Hospital Universitario de La Princesa.

Madrid. España.

^dCIBEREHD.

^eFundación Mutua Madrileña. Madrid. España.

Objetivos: 1) Analizar el perfil citocínico Th1/Th2 en células mononucleares periféricas de pacientes con hepatitis crónica C (HCC) en tratamiento con PEG-IFN más ribavirina. 2) Correlacionar el balance Th1/Th2 con la respuesta terapéutica. 3) Validar factores predictores de respuesta virológica sostenida (RVS).

Métodos: 44 pacientes naïve con HCC genotipo 1 recibieron PEG-IFN más ribavirina (1-1,2 g/día) durante 48 semanas. Se analizaron basalmente, durante el tratamiento y el seguimiento mediante citometría de flujo, tanto en linfocitos en reposo como estimulados con éster de forbol, los marcadores de superficie CD4 y CD8, así como la producción intracitoplásica de IL-4, IFN γ TNF α . Los factores predictores obtenidos se trataron de validar con otra cohorte de 12 pacientes de similares características. Análisis estadístico: t de Student para variables independientes, test de chi-cuadrado y ANOVA.

Resultados: De los 44 pacientes (edad media 45 \pm 8 años), 26 (59%) alcanzaron una RVS, 13 recidivaron (30%) y 5 no respondieron (11%). Al primer mes de tratamiento, la expresión de TNF α por los CD4+ fue mayor en los pacientes con RVS que en los no respondedores (NR) ($36,5 \pm 25$ vs 17 ± 21 , $p < 0,01$). Al tercer mes de tratamiento, la expresión de IL-4 por los CD8 fue menor en los pacientes con RVS que en los NR ($1,9 \pm 4,2$ vs $3,9 \pm 4,2$, $p < 0,05$) y la expresión de TNF α por los CD8 fue mayor en los que alcanzaron una RVS ($48,8 \pm 20,9$ vs 31 ± 23 , $p < 0,01$). Al finalizar el tratamiento, la expresión de IFN γ por los CD8 y CD4 estimulados fue mayor en los pacientes con RVS ($17,3 \pm 14$ vs $10 \pm 8,5$, $p < 0,04$) y ($10,7 \pm 8,2$ vs $5,9 \pm 5,5$, $p < 0,03$). En el estudio multivariante, los factores predictivos de RVS fueron: niveles más bajos de IL-4 estimulada al tercer mes, así como niveles más altos de IFN γ estimulado y niveles más bajos de IL-4 al final del tratamiento. Otros 12 pacientes con HCC (genotipo 1, 46 ± 8 años) fueron tratados con la misma pauta durante 48 semanas: 5 alcanzaron una RVS, 5 recidivaron y 2 no respondieron. Los pacientes con RVS presentaron al tercer mes de tratamiento valores bajos de IL-4s ($1,6 \pm 0,4$ vs $3,6 \pm 1,9$, $p < 0,05$) y elevados de TNF α ($6,3 \pm 0,1$ vs $3,9 \pm 0,3$, $p < 0,05$).

Conclusiones: Una respuesta Th1 por los linfocitos T CD8 durante el tratamiento antiviral con PEG-IFN más ribavirina se asocia con la RVS. Podría utilizarse como predictor de RVS al tercer mes de tratamiento. El análisis con otras citocinas se está realizando en la actualidad.

P-75. VALOR PREDICTIVO DE LA CINÉTICA VIRAL DURANTE LAS 12 PRIMERAS SEMANAS DE TRATAMIENTO CON IFN-PEG Y RBV EN TRASPLANTADOS CON RECIDIVA VHC (GENOTIPO-1). COMPARACIÓN CON INMUNOCOMPETENTES

M.L. González-Diéguez^a, V. Cadahía^a, S. Melón^b, M. Oña^b, L. Rodrigo^a y M. Rodríguez^a

^aDepartamento de Hepatología.

^bDepartamento de Virología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

Introducción: Mientras que en pacientes inmunocompetentes las reglas de interrupción precoz del tratamiento están bien establecidas, no ocurre lo mismo en el ámbito del trasplante hepático.

Objetivos: Conocer la cinética viral en trasplantados (tx) y su valor predictivo sobre la respuesta viral sostenida (RVS), comparándola con la observada en no trasplantados (notx).

Pacientes: 76 (34tx/42notx), genotipo 1, con biopsia pretratamiento y tratados con PEG α 2b+RBV. Variables: RNA-VHC basal, sem-4 y 12, ALT, edad, sexo, IMC, diabetes (DM), estadio de fibrosis, dosis PEG/RBV, reducción dosis, uso de factores hemopoyéticos, respuesta virológica rápida (RVR), precoz (RVP) y RVS. En los notx sin RVP, el tratamiento fue interrumpido al mes-3 y en tx se mantuvo al menos 48 sem.

Resultados: Pretratamiento, la edad ($p = 0,01$), los niveles de ALT ($p = 0,0001$) y la frecuencia de DM ($p = 0,0001$) fueron superiores en tx que en notx. La dosis inicial de PEG ($1,7 \pm 1,9/1,7 \pm 2,1$ μ g/kg/sem) y de RBV ($12,9 \pm 1,4/12,5 \pm 2,1$ mg/kg/d) fueron similares en ambos grupos ($p = 0,2$ y $p = 0,9$). La RVS global fue del 46% (42% en tx/50% en notx; $p = 0,3$). Las únicas variables pretratamiento asociadas con RVS fueron la DM (26% DM/56% no-DM; $p = 0,04$) y la carga viral (40% alta/63% baja; $p = 0,05$). El descenso del RNA-VHC en sem-4 ($2,4 \pm 2/1,9 \pm 2$) y 12 ($3,9 \pm 2,3/3,5 \pm 2,6$) fue mayor en notx que en tx, pero sin significación ($p = 0,2$ y $p = 0,4$). Las tasas de RVR (11%/21%; $p = 0,3$) y RVP (64%/71%; $p = 0,6$) fueron inferiores en tx, pero sin diferencias significativas. El 86% de los tx y el 92% de los notx con un descenso del RNA < 1log10 en sem-4 no tuvieron RVS, mientras que la tuvieron el 91% de los tx y el 88% de los notx con un descenso > 2,2 log. Todos los pacientes, tx y notx, con RVR tuvieron RVS (VPP: 100%), con igual VPP (65%) en tx y en notx. Ninguno de los 12 tx sin RVP tuvo RVS (VPP: 100%), mientras que el VPP fue del 64% en tx y 73% en notx.

Conclusiones: La cinética viral durante las 12 primeras semanas de tratamiento no es diferente en tx y notx, mostrando una capacidad de predicción sobre RVS similar en ambos grupos, por lo que las mismas reglas de interrupción precoz que se aplican en notx serían válidas en tx. La caída del RNA-VHC en sem-4 identifica pacientes con alta y baja probabilidad de RVS en ambos grupos, lo que puede ser útil para dirigir el tratamiento cuando se disponga de nuevos fármacos. Es posible que la elevada prevalencia de diabetes sea uno de los factores condicionantes de respuesta en pacientes trasplantados.

P-76. FACTORES PREDICTIVOS DE RECIDIVA EN EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA C EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL EN HOSPITALES ESPAÑOLES. ESTUDIO FAST-4: ANÁLISIS INTERMEDIO

C.M. Fernández Rodríguez^a, M.A. Serra^b, R. Pérez Álvarez^c, J.J. Sánchez Ruano^d, J.R. Fernández Ramos^e, J.R. Larrubia^f, S. Alonso^a, A. Escudero^b, R. Pérez López^c, M.E. Moreno Gutiérrez^g y B. Box^g

^aFundación Hospital Alcorcón. Madrid. España.

^bHospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. España.

^cHospital Central de Asturias. Oviedo. España.

^dHospital Virgen de la Salud. Toledo. España.

^eHospital de Cruces. Bilbao. España.

^fHospital de Guadalajara. Guadalajara. España.

^gSchering-Plough, S.A. Madrid. España.

Introducción: Las tasas de fracaso terapéutico por recidiva tras el tratamiento de la hepatitis crónica C, se han obtenido como análisis secundario de estudios dirigidos a conocer las tasas de RVS.

Objetivos: Conocer la tasa de recidiva y los factores que influyen en la misma en pacientes españoles tratados con Peg-interferón α-2b y RBV.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo, multicéntrico, realizado en 41 hospitales españoles. Se incluyeron entre abril de 2008 y febrero de 2009 un total de 278 pacientes que habían alcanzado respuesta virológica al final de tratamiento (< 50 UI/ml), con peg-interferón α-2b y RBV ajustada por peso. Se presentan los resultados de factores predictivos de recidiva en 140 pacientes que habían completado la semana 24 post-tratamiento (edad media 46 ± 9 años, 63% varones). El IMC fue de 24,8 ± 3,6 Kg/m². Un 58% eran G1/4, con una carga viral < 600.000 UI/ml en el 45% de los casos y existía fibrosis avanzada (F3-F4) en el 35%. La dosis media de RBV fue de 14 ± 2,3 mg/kg/día.

Resultados: La tasa de recidivas fue del 13% (IC95%; 7,4-18,6%) y del 14% en G1. Los factores predictivos de recidiva en el análisis univariante fueron: Edad > 40 años; IMC; negativización del ARN-VHC en las semanas 4 y 12 de tratamiento y la ausencia de respuesta bioquímica. En el análisis multivariante, la negativización del ARN-VHC en las semanas 4 y 12 resultó ser el único factor predictivo de recidiva. La dosis de RBV no influyó en la recidiva, si bien la reducción de dosis inferior a 10,6 mg/kg/día se asocio a tasas de recidiva del 37%. Los pacientes con fibrosis avanzada F3/4 presentaron mayor tendencia hacia la recidiva que los de F0-F2 (19% vs 8%; NS).

Conclusiones: Los datos preliminares de este estudio confirman una baja tasa de recidivas en pacientes tratados con peginterferón α-2b y RBV. El único factor independiente relacionado con la tasa de recidivas fue la cinética viral en las semanas 4 y 12.

P-77. DETECCIÓN DE MUTACIONES PRIMARIAS DE RESISTENCIA FREnte AL VHB EN INMIGRANTES AFRICANOS Y EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO RECIENTE DE INFECCIÓN POR VIH EN ESPAÑA

M. Bottecchia, A. Treviño, A. Madejón, S. Puente, C. Rodríguez, C. Barros, J. García-Samaniego y V. Soriano

Servicios de Hepatología, Enfermedades Infecciosas y Medicina Tropical. Hospital Carlos III. CIBERehd. Madrid. España.

Introducción y objetivos: El uso generalizado de lamivudina (LAM) en el tratamiento de la hepatitis crónica B ha favorecido la aparición de mutaciones de resistencia a tratamiento antiviral frente al VHB.

Objetivos: Evaluar la presencia de mutaciones primarias de resistencia a terapia antiviral frente al VHB en pacientes con alto riesgo de infección, tales como inmigrantes de zonas endémicas, y pacientes con diagnóstico reciente de infección por VIH.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 1718 pacientes inmigrantes procedentes de zonas endémicas de infección con VHB (77% africanos, 22% sudamericanos, 1% asiáticos) atendidos en el Hospital Carlos III durante los últimos 3 años. Asimismo, se incluyeron 1519 pacientes con diagnóstico reciente de infección con VIH-1 (48% españoles, 20% africanos sub-saharianos, 21% sudamericanos, 7% europeos, 1 de Filipinas y 1 del Magreb) atendidos en diferentes hospitales del área urbana de Madrid desde el año 2000. En todos los pacientes se analizó la presencia de marcadores de infección por VHB. En aquellos pacientes positivos al HBsAg se determinó el genotipo viral y la presencia de mutaciones de resistencia mediante sistema InnoLipa, secuenciación génica (Trugene) y análisis filogenético.

Resultados: El HBsAg fue positivo en 186/3237 (5,7%) de los pacientes analizados (121 inmigrantes y 65 pacientes con diagnóstico reciente de infección por VIH). El ADN-VHB fue positivo en 28/52 (53,8%) de los pacientes inmigrantes analizados y en 55/65 (85%) de los recientemente diagnosticados de VIH, con positividad al HBsAg. Cuatro pacientes (2,1%) portaban la mutación rtM204V, que confiere resistencia a lamivudina, emtricitabina y telbivudina. Dos de estos pacientes eran inmigrantes africanos, HBeAg y VIH negativos, infectados con VHB de genotipo A y E, respectivamente. Los otros 2 pacientes (uno de la República Dominicana y otro de Marruecos) pertenecían al grupo de pacientes con diagnóstico reciente de infección por VIH, y presentaban infección con VHB de genotipo A y D, respectivamente. Ninguno de ellos presentaba mutaciones de resistencia frente a VIH.

Conclusiones: La identificación de mutaciones primarias de resistencia a lamivudina frente al VHB, en pacientes inmigrantes africanos (2/28; 7,1%) y en pacientes VIH/VHB sin antecedentes previos de tratamiento antirretroviral (2/55; 3,6%) puede tener importantes implicaciones en la selección de terapia frente al VHB.

P-78. TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA CON METFORMINA ANTES DE LA TERAPIA ANTIVIRAL CON PEGINTERFERÓN Y RIBAVIRINA EN LA HEPATITIS CRÓNICA C. ESTUDIO PILOTO

M. Cuaresma, A. Rojas, L. Grande, E. Hoyas y M. Romero-Gómez

UGC Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

Introducción: El estudio TRIC-1 demostró que el uso de la metformina concomitante al tratamiento antiviral de la hepatitis crónica C, aumenta la tasa de curación en mujeres y en pacientes que consiguieron un HOMA inferior a 2 en las 24 primeras semanas de tratamiento (Romero-Gómez et al. Hepatology 2009;50).

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo y abierto del uso de metformina 850 mg/12h/día de forma secuencial al tratamiento con peginterferón y ribavirina durante 48-72 semanas. Incluimos 7 mujeres y 4 hombres con hepatitis crónica C difícil de curar, genotipo 1 o 4, con sobrepeso (IMC = 28,1+3,7 kg/m²), carga viral alta (n = 11), fibrosis avanzada (n = 6) y HOMA > 4.

Resultados: La disminución media del HOMA durante el tratamiento con metformina previo a la terapia antiviral fue de -2,95 ± 2,26, entre -0,5 y -6,4, de forma que se normalizó la sensibilidad a la insulina en 3 (27%) y se alcanzó un HOMA < 4 en 8 (72,7%). Presentaron respuesta viral sostenida (RVS) 6/11 (54,5%), 5/7 (71%) en mujeres y 1/4 (25%) en hombres (p = ns). En las 4 mujeres con fibrosis avanzada se consiguió RVS con la terapia secuencial.

Conclusiones: La metformina previa al tratamiento antiviral disminuye la resistencia a la insulina y consigue una tasa de respuesta viral sostenida superior a la esperada en pacientes con hepatitis crónica C difíciles de curar, sobre todo en mujeres con hepatitis C genotipo 1, fibrosis avanzada, carga viral alta y resistencia a la insulina.

P-79. DIFERENCIAS EN LOS TÍTULOS SÉRICOS DE HBsAg Y ADN-VHB EN PACIENTES INFECTADOS CON DIFERENTES GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B. IMPACTO DE LA SUPERINFECCIÓN DELTA

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

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

Introducción: Los títulos del antígeno de superficie del VHB (HBsAg) pueden utilizarse como un marcador secundario de replicación del VHB. El objetivo de este estudio fue analizar la correlación entre los títulos de HBsAg y DNA-VHB séricos en pacientes con hepatitis B (con y sin sobreinfección delta) infectados por diferentes genotipos del VHB. **Pacientes y métodos:** Se incluyeron muestras retrospectivas de suero de 80 pacientes con hepatitis crónica B (27 VHB, 16 VHB/VHD, 22 VHB/VIH y 15 VHB/VIH/VHD). El genotipo infectante fue VHB-A en 37 (47%) y VHB-D en 43 (53%) pacientes. Las muestras se obtuvieron antes de iniciar el tratamiento antiviral en todos los casos. Los títulos de HBsAg se cuantificaron mediante Monolisa HBsAg Ultra (Bio-Rad) y los niveles de DNA-VHB mediante PCR en tiempo real (Abbott).

Resultados: No se encontraron diferencias significativas entre los pacientes monoinfectados con genotipos A o D tanto en lo que se refiere a títulos de HBsAg ($6,4 \times 10^4$ vs $9,1 \times 10^3$ IU/ml; $p = 0,077$) como de carga viral ($3,0 \times 10^7$ vs $7,9 \times 10^6$ IU/ml; $p = 0,163$), si bien ambos marcadores tendían a ser mayores en los pacientes infectados con genotipo A. Este comportamiento fue diferente en los pacientes con sobreinfección delta. Así, los pacientes VHB/VHD con genotipo D tenían títulos significativamente mayores tanto de HBsAg ($1,5 \times 10^5$ vs $6,7 \times 10^3$ IU/ml; $p = 0,01$) como de DNA-VHB (1×10^7 vs 7×10^6 IU/ml; $p = 0,001$) que los pacientes con genotipo A. Las diferencias entre los niveles de HBsAg y DNA-VHB entre los pacientes infectados con VHB-A y VHB-D se mantuvieron independientemente del estatus VIH. No se encontraron diferencias significativas en la relación HBsAg/DNA-VHB entre los pacientes VHB-A y VHB-D tanto en pacientes VHB (24,5 vs 8,3; $p = 0,4$) como en los VHB/VHD (12 vs 3; $p = 0,323$).

Conclusiones: Los niveles de HBsAg y DNA-VHB séricos tienen un comportamiento diferente entre los pacientes infectados por los genotipos A y D del VHB en función de la presencia o no de sobreinfección delta. Ésta se asocia a un incremento en los niveles de ambos marcadores en pacientes infectados con VHB-D. Estos resultados sugieren que las interacciones entre VHB y VHD que afectan a los niveles de replicación viral y la capacidad de encapsidamiento pueden ser genotipo-dependiente. La correlación entre los niveles de HBsAg y carga viral no parece verse afectada significativamente por el genotipo viral o la sobreinfección con VHD.

P-80. FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA EN PACIENTES CON RESPUESTA VIROLÓGICA PRECOZ COMPLETA AL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C

M. García-Retortillo^a, R.M. Morillas^b, M. Miquel^c, O. Rodríguez-López^a, I. Cirera^a, M. Vergara^c, M. Sala^b, M.D. Giménez^a, N. Cañete^a, M. Gallach^c, M. Ardèvol^d, M.A. Álvarez^e, S. Montoliu^f, M. Romero-Gómez^a, R. Planas^b y R. Solà^a

^aSección de Hepatología. Servicio de Aparato Digestivo.
Hospital del Mar. IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona.
Barcelona. España.

^bUnidad de Hepatología. Servicio de Gastroenterología. CIBERehd.
Hospital Germans Trias i Pujol. Universitat Autònoma
de Barcelona. Barcelona. España.

^cUnidad de Hepatología. Servicio de Gastroenterología. CIBERehd.
Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell. Barcelona. España.

^dServicio de Farmacia. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.
Barcelona. España.

^eHospital Sant Joan De Déu. Manresa. Barcelona. España.

^fHospital Universitari Joan XXIII. Tarragona. España.

^aUCM Enfermedades Digestivas y CIBERehd. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

Introducción: Una parte de los pacientes que consiguen una respuesta virológica precoz completa (RVPc), definida por negativizar la carga viral en la semana 12, presentan una recidiva tras finalizar el tratamiento de la hepatitis crónica C (CHC).

Objetivos: Investigar los factores predictivos de respuesta virológica sostenida (RVS) en pacientes con CHC y RVPc durante el tratamiento con interferón pegilado (IFN PEG) alfa y ribavirina (RBV).

Métodos: Entre 2003 y 2006, fueron incluidos 467 pacientes naïves consecutivos con CHC (edad $44 \pm 0,5$ años, genotipo 1/4: 66,8%) que realizaron tratamiento con IFN PEG y RBV según práctica clínica habitual. El ARN VHC se determinó (PCR tiempo real) antes, a las 4, 12, 24 semanas, al final del tratamiento y a las 24 semanas durante el seguimiento.

Resultados: La tasa de RVS fue del 68,3% (G1: 58,2%, G2/3: 85,2%, G4: 69,4%). El ARN VHC fue indetectable por primera vez en la semana 4 en el 40,1% de los casos (G1/4: 25,6%, G2/3: 71,6%), en la semana 12 en el 33% (G1/4: 37,5%, G2/3: 23,9%), y en la semana 24 en el 11,1% de los pacientes (G1/4: 15,7%, G2/3: 1,9%). El ARN VHC nunca fue indetectable en el 15% de los pacientes (G1/4: 21,1%, G2/3: 2,6%). La RVS fue del 96,9%, 77,6%, y 31,8% cuando los pacientes presentaron el primer ARN VHC indetectable en la semana 4, 12 o 24, respectivamente ($p < 0,0001$). Dichos datos fueron el 100%, 80,2% y 34,1% en los pacientes con G1/4 y 95,1%, 65,2% y 0% en G2/3. En los pacientes con RVPc, los niveles basales de plaquetas $> 215 \times 10^6/l$ (OR 4,5; IC95%: 1,8-12,3; $p = 0,002$) y el descenso de la carga viral > 2 log en la semana 4 (OR 2,8; IC95%: 1,2-6,9; $p = 0,02$) alcanzaron valor predictivo independiente de RVS en el análisis multivariado. La probabilidad de RVS en los pacientes con niveles de plaquetas $< 215 \times 10^6/l$ y ARN VHC (basal-4 semanas) < 2 log fue del 50% (G1/4: 56%, G2/3: 20%), mientras que dicho valor aumentó al 90,5% (G1/4: 88,6%, G2/3: 100%) en los pacientes con niveles de plaquetas $> 215 \times 10^6/l$ y ARN VHC (basal-4 semanas) > 2 log.

Conclusiones: Los niveles basales de plaquetas y la magnitud del descenso de la carga viral en la semana 4 permiten identificar que pacientes con RVPc pueden tener RVS.

P-81. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTI-VHC ENTRE MONOINFEKTADOS Y COINFECTADOS VHC-VIH

L. Bonet, E. Martí, A. Escarda, J. Murillas, C. Marinescu,
A. Palomero, M.J. Bosque, P. Ortega, L. Lluís y P. Vaquer

Hospital Son Dureta. Baleares. España.

Introducción: La primera causa de ingreso hospitalario y muerte en pacientes VIH es la enfermedad hepática VHC. La infección VIH ejerce un efecto negativo sobre la hepatopatía VHC, acelerando la progresión de la fibrosis, la descompensación de la cirrosis, aumentando el riesgo de hepatocarcinoma y disminuyendo la supervivencia tras la primera descompensación.

Objetivos: Comparar cuál es la efectividad del tratamiento contra la hepatitis C crónica en nuestra serie de pacientes VIH frente a los no VIH.

Métodos: Estudio retrospectivo: pacientes naïves monoinfectados VHC y coinfectados VIH-VHC sometidos a tratamiento con interferón pegilado y ribavirina entre 2003 y 2008. Se han comparado las dos poblaciones, monoinfectados frente a coinfectados, mediante

Tabla 1 Perfil de respuesta de los 2 grupos de pacientes

Tipo respuesta	VIH (109)	No VIH (209)	Total (318)
RVS	45,9% (50)	62,7% (13)	56,9% (181)
NR	27,5% (30)	12,9% (27)	17,9% (57)
Respuesta con recaída	17,4% (19)	15,3% (32)	16,0% (51)
Interrupción por efectos secundarios	9,2% (10)	9,1% (19)	9,1% (29)

RVS: carga viral indetectable a los 6 meses post-tratamiento; NR: ausencia de disminución de 2 log de la carga viral basal en la semana 12 o carga viral detectable en la semana 24, respuesta con recaída: la carga viral es indetectable al finalizar el tratamiento pero positiva a los 6 meses, interrupción por efectos adversos: retirada del tratamiento por efectos secundarios sin haber obtenido respuesta.

Tabla 2 Variables independientes que influyen en la respuesta con significación en el análisis de regresión logística

Variables	OR	IC (95%)	P
No VIH/VIH	2,70	1,45-5,00	0,00
Fy2/F3y4	1,97	1,08-3,58	0,03
Genotipos 2 y 3/ genotipos 1 y 4	5,18	2,62-10,31	0,00
Carga viral basal	3,02	1,52-6,02	0,00
< 700.000 ui/ml/			
≥ 700.000 ui/ml			

pruebas de chi-cuadrado y se ha estudiado la influencia de cada variable en el tipo de respuesta aplicando análisis de regresión logística.

Resultados: Se han evaluado 318 pacientes, 109 (34%) coinfectados y 209 (66%) monoinfectados. No han alcanzado diferencias con significación estadística entre ambos grupos las variables: sexo, edad, carga viral basal, genotipo, fármacos estimuladores de colonias, reducción de dosis de interferón. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el grado de fibrosis F1 (en monoinfectados 9'5% frente a 16,4% en coinfectados) y F3 (en monoinfectados 13,5% frente a 27,4% en coinfectados) ($p < 0,01$). y en la reducción de ribavirina (en monoinfectados 7,7% frente a 19,4% en coinfectados) ($p < 0,05$).

Conclusiones: En la serie evaluada el porcentaje de curación es menor en el grupo de pacientes coinfectados que en el de los monoinfectados, aunque en éstos alcanza casi el 46%. En nuestro estudio, el grupo de pacientes monoinfectados y coinfectados es similar en genotipo, edad, sexo, carga viral y cirrosis. La interrupción por efectos adversos es igual en ambos grupos. Hay una mayor fibrosis en el grupo de coinfectados, pero esta variable no interacciona con la respuesta obtenida en función de ser o no VIH. La carga viral basal, VIH, genotipo y grado de fibrosis son variables independientes asociadas a curación en la muestra evaluada.

P-82. EVALUACIÓN DE UNA NUEVA TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO DEL CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC). COMPARACIÓN CON LA DETERMINACIÓN DE ARN-VHC

M. Horns^a, R. Jardí^{a,b}, F. Rodríguez-Frías^{a,b}, D. Tabernero^a, P. Fernández^b, M. Schaper^a, M. Buti^{a,c} y R. Esteban^{a,c}

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Instituto Carlos III. Barcelona. España.

^bDepartamento de Bioquímica.

^cDepartamento de Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: La valoración de la replicación del VHC se realiza mediante la detección de los niveles de ARN del VHC (ARN-VHC). La determinación cuantitativa del antígeno core del VHC (AgVHC) podría ser útil para sustituir o complementar esta valoración.

Objetivos: Evaluar la utilidad de la determinación de los niveles del AgVHC mediante un nuevo método automatizado y su correlación con la cuantificación de ARN-VHC.

Pacientes y métodos: La cuantificación del AgVHC se realizó en muestras séricas de 254 pacientes mediante un inmunoensayo quimiluminiscente en el autoanalizador ARCHITECT (Abbott Diagnostics). La cuantificación del ARN-VHC se efectuó en el sistema COBAS TaqMan (Roche Diagnostics). La sensibilidad y linealidad se evaluó con 210 muestras de pacientes con hepatitis crónica anti-VHC positivo (163 ARN-VHC positivo) de diferentes genotipos: 78 casos genotipo 1, 4 genotipo 2, 11 genotipo 3, 9 genotipo 4, 1 genotipo 5 y 4 casos con mezclas de genotipos. La especificidad del método se estableció mediante el estudio de 44 muestras de suero negativas para anti-VHC. Se consideró una muestra AgVHC positiva si presentaba un valor ≥ 10 fmol/ml.

Resultados: Se detectó AgVHC en 146 (89,6%) de las 163 muestras ARN-VHC positivo. De los 44 sueros anti-VHC negativo, 43 presentaron valores de ARN-VHC y AgVHC indetectables. El caso restante era un paciente inmunodeprimido positivo para ambos. La sensibilidad de la determinación de AgVHC se evaluó mediante diluciones seriadas de 3 muestras de suero con cargas virales $> 10^7$ UI/ml; se detectó AgVHC en las diluciones con ARN-VHC $\geq 10^4$ UI/ml. Los niveles de AgVHC presentaron una buena correlación con los niveles de ARN-VHC ($\log \text{ARN-VHC} = 1,0449 \times \log \text{AgVHC} + 2,7579$, $R = 0,9633$) y no se observaron diferencias entre los distintos genotipos virales.

La sensibilidad del método fue del 89,02%, la especificidad y el valor predictivo positivo del 100% y el valor predictivo negativo fue del 70,49%. El coste de la determinación del AgVHC fue 4 veces inferior al de la de ARN-VHC.

Conclusiones: La determinación de AgVHC mediante el inmunoensayo Abbott es un método simple y rápido para evaluar la actividad replicativa del VHC. La excelente correlación con la cuantificación de ARN-VHC permite que sea una alternativa a esta determinación, con un coste inferior.

P-83. FACTORES PREDICTIVOS DE EVOLUCIÓN A CIRROSIS EN LA HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C. RESULTADOS PRELIMINARES

G. Bejarano^a, M. Vergara^{b,f}, B. Dalmau^{b,f}, M. Gil^{b,f}, M. Miquel^{b,f}, J. Sánchez^{b,f}, M. Casas^b, E. Martínez-Bauer^b, J. Puig^c, M.R. Bella^d, D. Suárez^e y X. Calvet^{a,f}

^aMedicina Interna. Hospital de Mataró. Mataró. Barcelona. España.

^bServicio de Digestivo.

^cUDIAT.

^dServei de Anatomía Patológica.

^eServicio de Epidemiología. Corporación Sanitaria Parc Taulí. Universidad Autónoma de Barcelona. Sabadell. España.

^fCIBERhhd. Instituto Carlos III. Barcelona. España.

Introducción: Pocos estudios analizan los factores que predicen la evolución a cirrosis en los pacientes con hepatitis crónica por virus C.

Objetivos: Definir los factores predictivos de evolución a cirrosis hepática en una cohorte de pacientes con hepatitis crónica por virus C.

Material y métodos: Estudio longitudinal en el que se incluyeron todos los pacientes monoinfectados de hepatitis crónica por virus C a los que se les había realizado una biopsia hepática entre los años 1993 y 2003. Criterios de exclusión: presencia de otras enfermedades hepáticas concomitantes, presencia de cirrosis en la biopsia y adicción a alcohol. Los pacientes fueron evaluados entre septiembre de 2008 y septiembre de 2009. Se les realizó historia clínica, exploración física, analítica y ecografía hepática. Asimismo, se calcularon los índices predictivos no invasivos de fibrosis hepática (APRI, índice de Foros y NIHCED- Non Invasive Hepatitis C Early Diagnosis). La fibrosis se determinó por biopsia hepática (índice Knodell), excepto en aquellos pacientes con criterios de hipertensión portal (ascitis o varices esofágicas) que indicaban cirrosis establecida, ni en aquellos en que todos los índices predictivos indicaban ausencia de fibrosis o expansión portal (F0-F1). Se realizó un análisis univariante en el que se incluyeron variables demográficas, factores de riesgo y analíticos. Posteriormente, se realizó el análisis multivariante para detectar las variables estadísticamente significativas.

Resultados: Se incluyeron 120 pacientes con una edad media de 59,86 años ± 12,7 (X ± DE). Un 43,9% eran hombres. El tiempo medio de seguimiento fue de 10,42 años ± 34,7 meses (63-199 meses). La fibrosis hepática inicial que presentaba era: un 47,1% con fibrosis significativa y un 52,8% sin fibrosis o con expansión portal. En la actualidad, un 39% tienen cirrosis establecida, un 30,1% fibrosis avanzada (F3) y 30,9% ausencia de fibrosis o expansión portal. Un 87,8% son genotipo 1 y un 66,7% habían recibido tratamiento antiviral previo sin respuesta. El análisis multivariante mostró que la edad, GOT, GGT y la diabetes mellitus son factores predictivos estadísticamente significativos de evolución a cirrosis hepática.

Conclusiones: En los pacientes con hepatitis crónica por virus C la edad avanzada, la presencia de diabetes y unos niveles altos de GOT y GGT determinan mayor predisposición de evolución a cirrosis hepática.

P-84. DESEQUILIBRIO EN LA EXPRESIÓN DEL SISTEMA ANGIOPOYETINA/TIE2 EN MONOCITOS Y CÉLULAS DERIVADAS DE MONOCITOS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

Y. Rodríguez-Muñoz^a, S. Martín-Vilchez^a, M.J. Borque^b, R. López-Rodríguez^a, Á. Hernández-Bartolomé^a, M. Trapero-Marugán^a, M. Chaparro^a, R. Moreno-Otero^a y P. Sanz-Cameno^a

^aUnidad de Hepatología Hospital Universitario La Princesa y CIBERehd (Instituto de Salud Carlos III). Madrid. España.

^bUnidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. España.

Introducción: La hepatitis crónica C (HCC) es una enfermedad inflamatoria hepática que puede desembocar en cirrosis y hepatocarcinoma. La angiogénesis es un fenómeno patológico asociado a la HCC y a otras enfermedades inflamatorias. Estudios previos han esclarecido el papel fundamental del sistema Angiopoyetina/Tie-2 en la regulación de los procesos de angiogénesis como de los de inflamación. Además, recientemente se ha descrito la capacidad pro-angiogénica y pro-inflamatoria de los monocitos que expresan el receptor Tie-2.

Objetivos: Analizar la expresión del sistema de Angiopoyetina/Tie-2 en monocitos de sangre periférica de pacientes con HCC, así como en macrófagos (MDM) y células dendríticas derivadas (CDDM) de los mismos.

Material y métodos: Las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) se obtuvieron de 10 pacientes con HCC y 10 donantes sanos mediante gradiante de densidad. Los monocitos se separaron de los PBMCs por selección positiva con anticuerpos anti-CD14 acoplados a bolas magnéticas (Miltenyi Biotech). Las células obtenidas se cultivaron a una densidad de 1×10^6 y se diferenciaron a MDM y CDDM con el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) o con GM-CSF e IL-4, respectivamente. Para la obtención de CDDM maduras, las CDDM inmaduras fueron incubadas 24 horas con lipopolisacárido (LPS). La expresión de Tie-2 fue analizada en monocitos, MDM, CDDM inmaduras y maduras mediante citometría de flujo, mientras que los niveles de Angiopoyetina 1 y 2 (Ang1 y Ang 2) se determinaron en los sobrenadantes mediante ELISA.

Resultados: La expresión de Ang2 fue notablemente superior tanto en monocitos como en las células derivadas de éstos en pacientes con HCC con respecto a los controles, siendo estadísticamente significativo en el caso de MDM y CDDM maduras. Por el contrario, los niveles de Ang1 en los pacientes con HCC fueron inferiores respecto a los donantes sanos. En todos los casos ambos factores experimentaron una reducción gradual de su expresión durante el proceso de maduración. Estos fenómenos se acompañaron de un incremento significativo de la expresión de Tie-2 en los monocitos de pacientes, y un descenso en CDDM inmaduras y maduras de pacientes frente a los sujetos sanos.

Conclusiones: El desequilibrio de la expresión del sistema Angiopoyetina/Tie2 en monocitos y células derivadas de monocitos en pacientes con HCC podría explicar los trastornos angiogénicos e inflamatorios relacionados con esta hepatopatía crónica. Sería interesante elucidar en estas células el posible valor predictivo de progresión de enfermedad y/o de respuesta al tratamiento antiviral de la expresión del sistema Angiopoyetina/Tie2.

P-85. EFECTO DE LAS FLUOROQUINOLONAS EN LA REPLICACIÓN DEL VIRUS C DE LA HEPATITIS

G. Moraleda, R. Bárcena, I. García y S. del Campo

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España.

Introducción: El virus C de la hepatitis (HCV) causa cirrosis y carcinoma hepatocelular en el 20-30% de los pacientes infectados. Hasta el momento, el tratamiento estándar de PEG-IFN y ribavirina en la infección crónica HCV es efectivo solamente en el 40-60% de los casos, lo que conlleva a un serio riesgo para la vida de los pacientes, especialmente en aquellos con enfermedad avanzada. En estos casos, el trasplante hepático (TH) es la única opción terapéutica, incluso si la infección HCV post-trasplante es inevitable. Solamente una disminución de la carga viral previa al TH podría mejorar la evolución de la infección HCV post-trasplante. Las fluoroquinolonas son antibióticos bactericidas que han demostrado poseer propiedades antivirales frente a virus DNA y RNA, incluido el HCV (Ikeda et al. Antivir Res 1987;8:103-13; Sumiyoshi et al. J Gen Virol 1983;640:2329-33). Existen estudios piloto de tratamiento de la infección crónica HCV con IFN o con IFN en combinación con ofloxacino con resultados contradictorios (Tsutsumi et al. J Gastroenterol Hepatol 1996;11:1006-11; Negro et al. J Hepatol 1998; 29:369-74).

Objetivos: El efecto que tienen las quinolonas sobre la replicación del HCV utilizando el modelo celular de replicones HCV.

Material y métodos: Las líneas celulares de hepatoma Huh7 conteniendo el replicón del HCV (Huh7.b Clone A y Huh7.b Ava.5, cedidas por Apath Laboratories, St. Louis, MO) que expresan establemente las proteínas no estructurales del HCV se trataron con: Norfloxacino (NFX), Ciprofloxacino (CPX), Enoxacino (ENX), Ofloxacino (OFX) y Levofloxacino (LFX) a concentraciones de 1, 10 y 100 µg/ml durante 3 o 6 días. El RNA-HCV se cuantificó mediante RT-

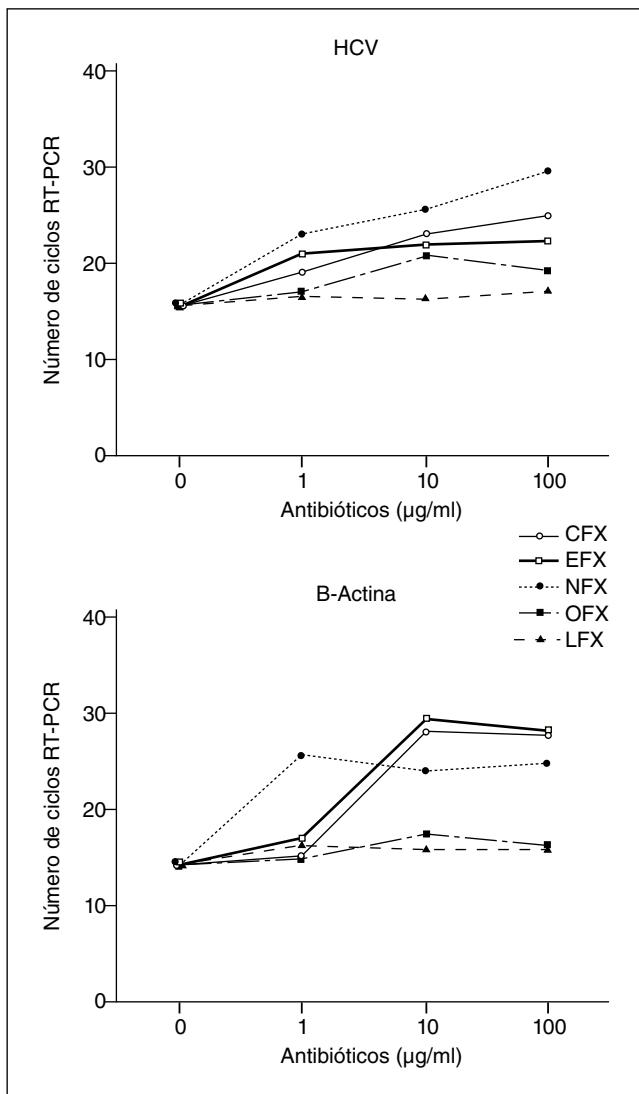


Figura 1

PCR en tiempo real. Para normalizar la cuantificación relativa del RNA viral se amplificó bajo las mismas condiciones el gen de la β -Actina.

Resultados: Se observó una disminución en los niveles de RNA-HCV directamente proporcional a las concentraciones de antibióticos utilizadas. También se observó esta misma tendencia en el gen de la β -actina (figs. 1 y 2). Ct: n° de ciclo en el que el producto de PCR empieza a detectarse. A > Ct, < nivel basal de HCV-RNA.

Conclusiones: La disminución de los niveles de HCV-RNA parecen estar relacionados con el efecto citotóxico de los antibióticos lo que sugiere que el papel de las quinolonas como agentes antivirales en el contexto del modelo celular de replicones HCV es limitado.

P-86. EL METABOLISMO DEL ALCOHOL A ACETALDEHÍDO INDUCE LA EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL DE COLESTEROL STAR

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

Unidad de Hepatología. Hospital Clínic i Provincial. CIBEREHD, IDIBAPS, IIBB-CSIC. Barcelona. España.

Introducción: El colesterol mitocondrial juega un papel crítico en la transición de esteatosis a esteatohepatitis debido a la sensibilización de los hepatocitos al estrés oxidativo y muerte celular inducida TNF/Fas mediante la disminución del GSH mitocondrial (GSHm). Resultados previos han mostrado que el consumo de alcohol induce la disminución del GSHm debido al incremento del colesterol mitocondrial, efecto que ha sido reproducido por la acción directa del acetaldehído generado en el metabolismo oxidativo del alcohol. Por otra parte, hemos observado que StAR, un transportador de colesterol a la mitocondria, juega un papel clave en la regulación del colesterol mitocondrial en células de carcinoma hepatocelular humano (Montero et al. Cancer Res 2008). Sin embargo, el papel del alcohol/acetaldehído en la expresión de StAR no se ha examinado previamente. Por tanto, nuestro objetivo fue evaluar el efecto del alcohol/acetaldehído en la expresión de StAR y su impacto en el colesterol mitocondrial.

Métodos: La expresión de StAR se analizó por western blot y qPCR en células HepG2 expuestas a acetaldehído (1-5 días), así como en muestras hepáticas de ratas tratadas con alcohol (Lieber-DeCarli) durante 4 semanas. El nivel de colesterol libre y GSH en mitocondria se analizaron por HPLC y espectrofotometría, respectivamente. El ARN procedente de biopsias humanas de pacientes con hepatitis alcohólica se extrajo con TRIzol bajo condiciones de esterilidad y se realizó PCR a tiempo real usando un ABI PRISM-7900 con sondas Taq-Man prediseñadas para StAR.

Resultados: Extractos hepáticos de ratas tratadas con alcohol o células HepG2 incubadas con acetaldehído (3-5 días) mostraron un incremento (2-4 veces) en la expresión proteica de StAR con respecto a muestras controles. Esta observación se acompañó de la acumulación de colesterol libre mitocondrial (2-3 veces), examinada por microscopía confocal en células intactas o en mitocondria aislada, que se tradujo en la disminución del nivel de GSHm (40-60%). El silenciamiento de StAR en HepG2 por siRNAs contra StAR disminuyó el nivel de colesterol mitocondrial atenuando la disminución del GSHm. Para examinar el impacto de estos resultados en la patología humana, biopsias de pacientes con hepatitis alcohólica mostraron un incremento significativo del nivel de mRNA de StAR (3-6 veces) comparado con controles sanos.

Conclusiones: La inducción de la expresión de StAR por acetaldehído contribuye a la acumulación de colesterol mitocondrial y la consiguiente disminución del GSHm. Esos resultados sugieren que StAR puede jugar un papel en la hepatopatía alcohólica y podría ser una nueva diana terapéutica.

P-88. LA ESTEATOSIS HEPÁTICA SE ASOCIA A INSULINORRESISTENCIA Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN EL TERRITORIO SINUSOIDAL HEPÁTICO QUE SE CORRIGEN CON METFORMINA

M. Pasarín, A. Rodríguez-Villarrupla, J. Gracia-Sancho, V. la Mura, J. C. García-Pagán, J.G. Abraldes y J. Bosch

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

Introducción: La insulino resistencia (IR) bloquea los efectos de la insulina sobre el endotelio vascular, lo que contribuye al daño vascular en el síndrome metabólico. La metformina ha demostrado mejorar la sensibilidad a la insulina. Los objetivos de este estudio fueron evaluar si la enfermedad hepática por depósitos de grasa (EHDG) produce IR en el endotelio sinusoidal hepático y si el tratamiento con metformina mejora estas anormalidades.

Métodos: Cuatro grupos de ratas fueron tratados durante 3 días con: 1) DC: Dieta control + vehículo; 2) DC + metformina; 3) DRG: Dieta rica en grasa + vehículo; 4) DRG + metformina. Se evaluó la respuesta vascular a la insulina en el modelo de perfusión de hígado aislado. La sensibilidad del endotelio sinusoidal a la insulina se

estudió por la vasodilatación hepática dependiente de endotelio (en respuesta a acetilcolina) en presencia o ausencia de insulina y el grado de fosforilación de eNOS (Western Blotting) después de la inyección portal de insulina. Se analizó la histología hepática mediante H/E y oil red.

Resultados: La DRG indujo esteatosis hepática, que se atenuó con tratamiento con metformina ($p = 0,036$). Los hígados del grupo DC mostraron una vasodilatación dosis-dependiente en respuesta a insulina. Esta respuesta fue menor (16%) en los hígados de ratas DRG ($p = 0,03$). En ratas tratadas con metformina la respuesta vasodilatadora a la insulina fue similar en DRG y DC ($p = 0,99$). El pretratamiento con insulina potenció la vasodilatación dependiente de endotelio de la vasculatura hepática en ratas DC ($p = 0,002$) pero no en ratas DRG ($p = 0,182$). El tratamiento con metformina restauró la capacidad de la insulina para potenciar la vasodilatación dependiente de endotelio en ratas DRG ($p = 0,004$). La insulina indujo un incremento significativo en la fosforilación hepática de eNOS en ratas control (?? 2,5; $p = 0,004$) pero no en ratas DRG (?? 1,21; $p = 0,20$). En ratas DRG el tratamiento con metformina mejoró la fosforilación inducida por insulina de eNOS (?? 3,14; $p = 0,014$).

Conclusiones: La administración de una DRG durante 3 días induce esteatosis hepática e insulinoresistencia en el endotelio sinusoidal hepático, que se corrige con tratamiento con metformina. Estos hallazgos sugieren que la metformina mejora las alteraciones de la microcirculación hepática observadas en fases tempranas de la EHDG.

P-89. AORTOPATÍA INFLAMATORIA HIPERTENSIVA PORTAL CRÓNICA EN LA RATA

M.A. Aller^a, N. de las Heras^b, B. Martín-Fernández^b, E. Revuelta^{a,b}, G. Baeza^{a,b}, M. Miana^b, S. Ballesteros^b, V. Cachofeiro^b, V. Lahera^b y J. Arias^a

^aDepartamento de Cirugía I.

^bDepartamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. España.

Introducción: El desarrollo de una inflamación esplánica y sistémica de bajo grado ha sido propuesto como una consecuencia precoz de la hipertensión portal en la rata. El objetivo de este estudio ha sido verificar si la hipertensión portal prehepática por triple ligadura parcial de la vena porta produce a largo plazo en la rata una respuesta inflamatoria de bajo grado en la aorta.

Métodos: Se han utilizado ratas macho Wistar: seudo-operadas (SO; $n = 10$) y con triple ligadura parcial de la vena porta (TLVP; $n = 12$) a los 22 meses de la intervención. Se han evaluado por RT-PCR la expresión aórtica de enzimas de estrés oxidativo y nitrosativo, como xantina-dehidrogenasa (XD), la subunidad p22phox de NAD(P)H-oxidasa, eNOS, catalasa y SOD; NF-κB e IκB; y parámetros de fibrosis vascular, como VEGF, TGF-α, Factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), colágeno-1 y MMP-9. Además, se han cuantificado mediante ELISA los niveles séricos de IL-1β, IL-6 TNF-α e IL-10.

Resultados: En las ratas con hipertensión portal la expresión aórtica de la subunidad p22phox de NAD(P)H oxidasa, (186 ± 20 vs $100 \pm 13,6$; $p < 0,05$), eNOS ($200 \pm 21,1$ vs $100 \pm 10,1$; $p < 0,01$), SOD (159 ± 20 vs $100 \pm 5,6$; $p < 0,05$), NF-κB ($205 \pm 20,5$ vs $100 \pm 7,1$; $p < 0,05$), CTGF ($154 \pm 18,6$ vs $100 \pm 8,5$; $p < 0,05$), colágeno-1 ($143 \pm 19,4$ vs $100 \pm 8,5$; $p < 0,05$), y MMP-9 (168 ± 20 vs $100 \pm 9,5$; $p < 0,05$) aumentó significativamente. Por el contrario, la expresión aórtica de mRNA de XD, catalasa, VEGF y TGF-α fue similar en ambos grupos. Los niveles séricos de IL-1β, IL-6 y TNF-α fueron superiores ($p < 0,05$) en las ratas con hipertensión portal respecto de las ratas SO, en tanto que las concentraciones séricas de IL-10 fueron similares.

Conclusiones: En la pared aórtica de ratas con hipertensión portal se produce un incremento del estrés oxidativo-nitrosativo que podría activar mecanismos anti-oxidantes, estimular NF-κB, así como la remodelación mediante la producción de CTGF, colágeno-1 y MMP-9. Por consiguiente, se demuestra por primera vez el desarrollo de una respuesta inflamatoria aórtica de baja intensidad a largo plazo en ratas con hipertensión portal. Este modelo experimental podría ser de gran utilidad para futuros estudios sobre los mecanismos etiopatogénicos de la patología cardiovascular que se asocia a la hipertensión portal.

P-90. PAPEL DE LA ÁCIDO GRASO TRANSLOCASA FAT/CD36 EN LA INCORPORACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN HEPATOCITOS ESTEATÓSICOS DE RATAS OBESAS: IMPLICACIONES EN LA PATOGENIA DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA

X. Buqué, C. García-Monzón, M.E. Miquilena Colina, B. Ochoa y P. Aspichueta

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

Unidad de Investigación. Hospital Universitario Santa Cristina-CIBERehd. Madrid. España.

Introducción: Numerosos estudios señalan a la ácido graso translocasa FAT/CD36 como la principal proteína de membrana implicada en la entrada de ácidos grasos en adipocitos y células musculares, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Por el contrario, se ha descrito que la expresión de FAT/CD36 en la membrana de los hepatocitos es mínima y no parece estar implicada en la entrada de ácidos grasos. Sin embargo, estudios realizados en nuestro laboratorio con hepatocitos esteatósicos de ratas obesas Zucker, un modelo de obesidad que desarrolla resistencia a la insulina, hiperlipemia e hígado graso, mostraban un significativo aumento en los niveles de ARN mensajero de FAT/CD36 en comparación con los hepatocitos normales (J Lipid Res 2009).

Objetivos: Analizar el papel de FAT/CD36 en la incorporación de ácidos grasos en hepatocitos y su implicación en el establecimiento y desarrollo de la esteatosis hepática.

Métodos: Se analizó el patrón de expresión de FAT/CD36 en el hígado y en hepatocitos aislados de ratas obesas Zucker y de ratas control, de 6, 9 y 12 semanas, utilizando técnicas de Western blot, inmunohistoquímica e inmunofluorescencia. Además, se determinó la incorporación de oleato marcado radiactivamente en cultivos primarios de hepatocitos de ratas obesas y controles de 12 semanas.

Resultados: Observamos una mayor expresión de FAT/CD36 en la membrana basolateral de los hepatocitos de ratas obesas de 12 semanas, en comparación con los hepatocitos de ratas control, coincidiendo con el máximo grado de esteatosis hepática. Esta expresión de FAT/CD36 en la membrana hepatocelular se debía, principalmente, a una translocación desde un reservorio intracelular y no a un incremento en la cantidad total de transportador. Además, pudimos comprobar en cultivos primarios de hepatocitos aislados de ratas obesas de 12 semanas que la expresión de FAT/CD36 en la membrana plasmática de los hepatocitos esteatósicos se mantenía únicamente en presencia de concentraciones elevadas de insulina y sólo en estas condiciones se producía una mayor incorporación de oleato en el hepatocito.

Conclusiones: Los resultados de este estudio constituyen la primera evidencia de un papel activo de FAT/CD36 en la entrada de ácidos grasos en el hepatocito y de su relación con el desarrollo de esteatosis hepática, primera fase de la enfermedad hepática grasa no alcohólica.

P-91. EL ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA) PROMUEVE LA RESOLUCIÓN DE LA INFLAMACIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO MEDIANTE LA ACTIVACIÓN DE LOS MACRÓFAGOS M2 (FORMA ALTERNATIVA)

E. Titos, A. González-Pérez, C. López-Vicario, R. Horrillo, M. López-Parra, E. Morán-Salvador, M. Martínez-Clemente, V. Arroyo y J. Clària

Hospital Clínic. CIBERehd. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: La presencia de un estado subclínico de inflamación en el tejido adiposo constituye uno de los factores clave en la aparición de resistencia a la insulina y de complicaciones hepáticas asociadas a la obesidad. Dado que estudios recientes han demostrado que una dieta enriquecida con DHA, un ácido graso poliinsaturado omega-3, previene la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática en ratones obesos, el objetivo del presente estudio fue investigar los mecanismos responsables de los efectos protectores del DHA en el tejido adiposo y concretamente sus efectos sobre la población de células inflamatorias presentes en la fracción estromal vascular (FEV) del tejido adiposo y de adipocitos.

Métodos: Se utilizaron ratones macho C57BL6/J alimentados durante 13 semanas con una dieta rica en grasa (60% Kcal de la grasa, n = 37) divididos en dos grupos que recibieron DHA (4 µg/g p.c./día/i.p., n = 20) o placebo (salino, n = 17) durante 10 días. Se aislaron adipocitos y células de la FEV y la expresión génica y la población de macrófagos se analizaron por PCR cuantitativa y citometría de flujo, respectivamente.

Resultados: La administración de una dieta rica en grasa indujo un aumento en el número de células F4/80/CD11b doble positivas, indicativo de la presencia de una mayor población de macrófagos tisulares en el tejido adiposo. La dieta rica en grasa incrementó también la expresión de las adipocinas proinflamatorias IL-6 y MCP-1, y el análisis comparativo entre las poblaciones celulares reveló que las células de la FEV son las principales responsables de esta sobreexpresión. El tratamiento con DHA no redujo el número de células F4/80/CD11b doble positivas, pero sí que causó la polarización hacia macrófagos tipo M2 (activación alternativa), lo que resultó en un fenotipo antiinflamatorio caracterizado por una mayor expresión de IL-10, una adipocina antiinflamatoria tipo Th2, y CD206, un marcador de resolución de la inflamación. Este efecto antiinflamatorio se asoció a una disminución de la expresión de TNFalfa en las células de la FEV y adipocitos y a un incremento de PPARgamma y de la secreción de adiponectina por los adipocitos.

Conclusiones: El DHA ejerce efectos antiinflamatorios en el tejido adiposo de ratones obesos induciendo la activación alternativa de los macrófagos tisulares (M2), fenotipo asociado a la resolución de la inflamación, y modulando la expresión génica de adipocinas en las células de la FEV y en adipocitos.

P-92. REGULACIÓN DE LOS RAFT LIPÍDICOS MITOCONDRIALES POR COLESTEROL EN LA APOPTOSIS HEPATOCELULAR INDUCIDA POR TNF/FAS

N. Matías, A. Fernández, V. Manganelli, A. Tinari, W. Malorni, C. García-Ruiz, M. Sorice y J.C. Fernández-Checa

IIBB-CSIC. Barcelona. España.

Department of Experimental Medicine. Sapienza University of Rome. Roma. Italia.

Department of Technology and Health. Istituto Superiore de Sanitá. Roma. Italia.

Introducción y objetivos: Los rafts lipídicos (RL) constituyen unos dominios específicos de las membranas caracterizados por una composición lipídica singular enriquecida especialmente en colesterol y esfingolípidos, lo que determina su insolubilidad a detergentes. Dichos dominios juegan un papel importante en la señalización

celular, particularmente en la membrana plasmática, actuando como plataformas de generación de señales apoptóticas en respuesta a ligandos como el TNF o Fas (CD95). Sin embargo, durante la apoptosis de linfocitos inducida por Fas, se ha descrito que los RL mitocondriales forman un complejo multimolecular que interacciona con miembros proapoptóticos de la familia Bcl-2 (ej. Bax). Puesto que el colesterol es un componente clave de los RL y su tráfico a la mitocondria regula la susceptibilidad hepatocelular al TNF y Fas, el propósito de nuestra investigación fue examinar el papel del colesterol en la regulación de los RL mitocondriales y su función en la muerte hepatocelular inducida por TNF/Fas.

Métodos: Se preparó una fracción mitocondrial altamente purificada a partir de modelos nutricionales y genéticos de hipercolesterolemia en ratones, ya sea por la administración de dieta enriquecida en colesterol o alcohol, así como de ratones knockout para NPC1 y transgénicos para el factor de transcripción SREBP-2. El contenido de colesterol se determinó por HPLC, mientras que el de gangliósido GD3 se analizó por microscopía inmunoelectrónica e inmunoTLC. Las fracciones mitocondriales solubles o insolubles en detergente (Triton X-100) se analizaron por western blot para caveolina-1, hFis1 y VDAC.

Resultados: La expresión de hFis1 y VDAC se observó tanto en fracciones solubles como insolubles a detergente; sin embargo, los niveles de hFis1 y VDAC en las fracciones insolubles a detergentes fueron mayor en muestras de modelos enriquecidos en colesterol mitocondrial comparado con los controles. Además, el enriquecimiento en colesterol mitocondrial se asoció a un mayor contenido de gangliósido GD3 determinado por microscopía inmunoelectrónica. La presencia de caveolina-1 se observó exclusivamente en las fracciones insolubles pero no en las solubles, cuyo nivel incrementó por el enriquecimiento en colesterol. Resultados similares se obtuvieron con fracciones procedentes de ratones NPC1 y Tg-SREBP-2. En todos los modelos, los hepatocitos fueron sensibles a la muerte inducida por TNF o Fas, lo que se acompañó con un incremento de GD3 y colocalización con Bax, y consiguiente permeabilización de la membrana mitocondrial.

Conclusiones: Dichos resultados indican la presencia de RL en mitocondria hepática en modelos de hipercolesterolemia, en donde tendría lugar el anclaje de Bax en la membrana mitocondrial. Estos hallazgos pueden ser de relevancia en la esteatohepatitis tanto alcohólica como no alcohólica, debido a la susceptibilidad hepatocelular al Fas/TNF.

P-93. CARACTERIZACIÓN DEL PATRÓN DE EXPRESIÓN INTRAHEPÁTICO DE LA ÁCIDO GRASO TRANSLOCASA FAT/CD36 EN PACIENTES CON HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO Y CON HEPATITIS CRÓNICA C

M.E. Miquilena Colina^{a,e}, E. Lima Cabello^b, S. Sánchez Campos^{b,e}, M.V. García Mediavilla^{b,e}, M. Fernández-Bermejo^c, T. Lozano Rodríguez^{a,e}, X. Buqué^d, B. Ochoa^d, P. Aspichuela^d, J. González-Gallego^{b,e} y C. García Monzón^{a,e}

^aUnidad de Investigación. Hospital Universitario Santa Cristina. Madrid. España.

^bInstituto de Biomedicina (IBIOMED). Universidad de León. León. España.

^cServicio de Gastroenterología. Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. España.

^dDepartamento de Fisiología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Leioa. España.

^eCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

Introducción: La expresión de la ácido graso translocasa FAT/CD36 está aumentada en los hepatocitos de modelos animales de esteatosis (ES) hepática, acompañándose su translocación a la

membrana de un incremento de la incorporación hepatocelular de ácidos grasos. Se desconoce, no obstante, el patrón de expresión de este transportador en pacientes con ES de diferentes etiologías.

Objetivos: Caracterizar el patrón de expresión intrahepático de FAT/CD36 en pacientes con hígado graso no alcohólico (HGNA) y con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) con o sin ES.

Métodos: Se estudiaron 29 pacientes con HGNA, 18 con ES y 11 con esteatohepatitis (EH), 22 con VHC (12 con ES) y 25 con hígado normal (HN). Se cuantificó la expresión intrahepática de FAT/CD36 por PCR a tiempo real y Western blot. Además, se determinó la localización celular de FAT/CD36 mediante inmunohistoquímica en las biopsias hepáticas de los pacientes estudiados.

Resultados: Los niveles de ARN mensajero de FAT/CD36 eran significativamente más elevados en la ES ($+69,6 \pm 0,2\%$), EH ($+36,8 \pm 4,6\%$) y ES asociada al VHC ($+73,1 \pm 24,3\%$) que en el HN. En cambio, aunque los niveles de ARN mensajero de FAT/CD36 fueron más altos en los pacientes VHC sin ES ($+14,9 \pm 10,9\%$) que en el HN, la diferencia no fue significativa. La cantidad de proteína FAT/CD36 fue significativamente mayor en la ES ($+73,7 \pm 15\%$), EH ($+75,5 \pm 18,8\%$) y en VHC sin ES ($+38 \pm 10,1\%$) o con ES ($+93 \pm 29,4\%$) que en el HN. El contenido hepático de FAT/CD36 fue significativamente más alto en los pacientes VHC con ES que en aquellos sin ES. En el HN, FAT/CD36 se expresaba en las células de Kupffer y en el citoplasma de algunos hepatocitos, mientras que en la ES y en la EH la expresión de FAT/CD36 se localizaba predominantemente en la membrana de la mayoría de los hepatocitos. En los pacientes VHC con ES, la expresión de FAT/CD36 fue intensa tanto en la membrana como en el citoplasma de los hepatocitos, mientras que en aquellos sin ES se expresaba fundamentalmente en el citoplasma de los hepatocitos.

Conclusiones: La expresión de FAT/CD36 está anormalmente aumentada en la membrana hepatocelular de pacientes con HGNA y en la ES asociada al VHC, sugiriendo que la translocación de FAT/CD36 a la membrana hepatocelular puede ser determinante en la patogenia del HGNA y en la ES asociada al VHC.

P-94. ACCIONES HEPÁTICAS DIRECTAS DE LOS ANTIDIABÉTICOS ORALES TIAZOLIDINDIONAS: PIOGLITAZONA Y ROSIGLITAZONA ANTAGONIZAN, A NIVEL HEPÁTICO Y DE FORMA AGUDA, EL EFECTO HIPERGLUCEMIANTE DEL GLUCAGÓN EN HEPATOCITOS DE RATA EN PERIFUSIÓN

M.N. Sanz^a, C. Sánchez-Martín^a, D. Detaille^a, F. Gómez-Peralta^b, J. M. Recio-Córdoba^c y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^bSección de Endocrinología y Nutrición. Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. España.

^cServicio de Endocrinología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. España.

Introducción: Los antidiabéticos orales de la clase tiazolidindiona (TZDs), pioglitazona (PIO) y rosiglitazona (ROSI), ejercen la mayoría de sus efectos hipoglucemiantes por activación de los receptores nucleares activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ). Sin embargo, nuestro grupo de investigación ha demostrado que las TZDs también actúan de forma DIRECTA, independientemente de la activación de PPAR γ , inhibiendo la gluconeogénesis (GNG) y activando la glucólisis hepáticas en hepatocitos de rata en perifusión.

Objetivos: Usando la técnica de perifusión de células, investigar la capacidad de TZDs de antagonizar a nivel hepático los efectos pro-diabéticos del glucagón.

Material y métodos: Los hepatocitos se aislaron a partir de hígados de ratas Wistar macho en ayunas (24 h) antes del experimento o de ratas no en ayunas (experimentos de glucogenólisis). Los hepatocitos, aislados según la técnica de Berry y Friend, fueron perifundidos a 37 °C con tampón Krebs-bicarbonato saturado con O₂/CO₂ (19/1) en presencia o ausencia de PIO o ROSI 25 μ M. En ambas condiciones experimentales se infundió glucagón (10-7M) y dihidroxiacetona (DHA), como sustrato energético (ratas en ayunas). En cada uno de los siete estados estacionarios sucesivos se midió, mediante técnicas espectrofotométricas, la glucosa (JGlucosa) y el lactato + piruvato (JL + P) producidos por los hepatocitos en el perifusato celular saliente. Además, se midieron mediante técnicas espectrofluorimétricas algunos intermediarios metabólicos intracelulares como la glucosa 6-fosfato (G6P) y la fructosa 6-fosfato (F6P).

Resultados: En los hepatocitos perifundidos no en ayunas, el glucagón activó la degradación del glucógeno hepático (glucogenólisis) hasta glucosa en más del 200% e inhibió la glucólisis de dicha glucosa en un 72%. La administración de PIO y ROSI (25 μ M) no tuvo ningún efecto significativo sobre la glucogenólisis, aunque sí activó la glucólisis en un 76% y 200%, respectivamente, hasta valores cercanos a los controles. Por otra parte, usando ratas en ayunas el glucagón aumentó la gluconeogénesis (GNG) en un 98% con respecto al control e inhibió su glucólisis en un 82%. Las TZDs (25 μ M) revirtieron este efecto pro-diabético del glucagón, inhibiendo la GNG estimulada por el glucagón en un 25% y activando la glucólisis, inhibida por el mismo, en más de 120%. El análisis de los intermediarios metabólicos G6P y F6P indicaron que ambas glitazonas ejercieron sus acciones antiglucagón en la GNG hepática mediante inhibición de la hidrólisis de G6P, debido a una inhibición de la enzima glucosa-6-fosfatasa.

Conclusiones: Pioglitazona y rosiglitazona, además de sus conocidos efectos antidiabéticos a medio y largo plazo, revierten de manera rápida y directa el efecto hepático hiperglucemiantes del glucagón. Estos efectos se deben, por lo menos en parte, a la inhibición de la hidrólisis de G6P hasta glucosa.

P-95. LA SILIBININA REVIERTE TOTALMENTE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN EL HÍGADO, INDUCIDA EN RATAS POR DIETA RICA EN FRUCTOSA, A TRAVÉS DE UNA POSIBLE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS GLUCOSA-6-FOSFATASA Y PIRUVATO CINASA HEPÁTICAS

C. Sánchez-Martín^a, M.N. Sanz^a, D. Detaille^a, J.M. Recio-Córdoba^b, F. Gómez-Peralta^c, G.R. Villanueva^a y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^bServicio de Endocrinología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. España.

^cServicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. España.

Introducción: Está bien documentado que la dieta rica en fructosa causa resistencia a la insulina (RI) a nivel hepático entre otros órganos. El medicamento hepatoprotector silibinina (SB) ha mostrado recientemente propiedades en el tratamiento de la diabetes tipo 2. Estudios previos "in vitro" de nuestro grupo han mostrado que la SB inhibe tanto la gluconeogénesis como la glucólisis hepáticas en hepatocitos de rata perifundidos mediante una inhibición de las enzimas glucosa-6-fosfatasa y piruvato cinasa hepáticas.

Objetivos: Explorar la capacidad "in vivo" de la silibinina para revertir en el hígado las alteraciones en el metabolismo de la glucosa relacionadas con la resistencia a la insulina inducida por la dieta rica en fructosa, así como los mecanismos implicados a nivel hepático.

Material y métodos: Ratas Wistar macho se dividían en dos grupos principales. El primer grupo recibió una dieta estándar, mientras que otro grupo recibió una dieta rica en fructosa (60%). Después de 4 semanas, cada grupo de ratas era subdividido en otros dos grupos. Un grupo era tratado con SB (50 mg/kg/día, inyección i.p.) durante otras dos semanas, mientras que el otro recibía el vehículo. Los hepatocitos eran aislados según la técnica de Berry y Friend, eran perifundidos a 37 °C con Krebs-bicarbonato saturado con O₂/CO₂ y eran titrados con dihidroxiacetona (DHA) como sustrato energético. Se determinó la producción hepática de glucosa, lactato y piruvato en el perifusato así como la de dihidroxiacetona fosfato (DHAP), glucosa-6-fosfato (G6P), fructosa-6-fosfato (F6P) y fosfoenolpiruvato (PEP) en extractos celulares.

Resultados: En hepatocitos perifundidos, la dieta rica en fructosa incrementó tanto la gluconeogénesis (JGlucosa) como la glucólisis (JL + P) hepáticas en un 25% y un 22% respectivamente en comparación con las ratas control. La administración de SB durante dos semanas revirtió completamente estas alteraciones metabólicas. Además, la dieta rica en fructosa incrementó las concentraciones intrahepatocitarias de DHAP, F6P y G6P, obteniendo una doble relación entre JGlucosa y DHAP, G6P o F6P. Por su parte, la SB revirtió totalmente este efecto y normalizó dicha relación. Por otra parte, las ratas tratadas con fructosa mostraron un incremento de la concentración de PEP, llevando a una doble relación entre JL + P y DHAP o PEP comparado con ratas control. La SB también normalizó esta alteración.

Conclusiones: La SB revierte en el hígado de rata las alteraciones metabólicas propias de la resistencia a la insulina mediante una posible inhibición de la glucosa-6-fosfatasa y la piruvato kinasa hepáticas. Dado que el hígado es un órgano esencial para la regulación del metabolismo, estos resultados apoyan la posibilidad de que la SB pueda ser considerada como terapia complementaria para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

P-96. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES LIPOGÉNICOS E INFLAMATORIOS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD HEPÁTICA GRASA NO ALCOHÓLICA Y CON HEPATITIS C CRÓNICA

E. Lima^a, M.V. García-Mediavilla^{a,e}, M.E. Miquilena-Colina^{b,e}, J. Vargas-Castrillón^{b,e}, T. Lozano-Rodríguez^{b,e}, M. Fernández-Bermejo^c, J.L. Olcoz^{d,e}, J. González-Gallego^{a,e}, C. García-Monzón^{b,e} y S. Sánchez-Campos^{a,e}

^aInstituto de Biomedicina (IBIOMED). Universidad de León. León. España.

^bUnidad de Investigación. Hospital Universitario Santa Cristina. Madrid. España.

^cServicio de Gastroenterología. Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. España.

^dServicio de Gastroenterología. Complejo Asistencial de León. León. España.

^eCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Instituto de Salud Carlos III. España.

Introducción: El hígado graso no alcohólico (HGNA) y la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) son las enfermedades hepáticas más prevalentes en nuestro medio. Los factores metabólicos asociados al HGNA son asimismo determinantes en la progresión del daño hepático por VHC. Los receptores X del hígado (LXR) actúan como señalizadores celulares regulando no sólo genes del metabolismo lipídico sino también genes inflamatorios.

Objetivos: Evaluar el papel de LXRApha en la patogenia de la esteatosis (ES) hepática mediante el estudio de su expresión génica y de la expresión de los principales genes lipogénicos e inflamatorios regulados por dicho receptor en pacientes con HGNA y con infección crónica por VHC.

Métodos: En el estudio se incluyeron 29 pacientes con HGNA, 18 con ES y 11 con esteatohepatitis (EH), 22 con VHC (12 con ES) y 25 con hígado normal (HN). Los estudios de expresión génica se llevaron a cabo en las biopsias hepáticas de los pacientes mediante PCR cuantitativa a tiempo real y western blot.

Resultados: La expresión génica de LXRApha y de los principales genes lipogénicos regulados por él se encuentra significativamente inducida en los pacientes con HGNA (ES: LXRApha +114%, PPAR-gamma +131%, SREBP-1c +81%, FAS +89%; EH: LXRApha +131%, PPAR-gamma +120%, SREBP-1c +124%, FAS +77%, respecto a HN). Además, en pacientes con VHC, la inducción de dichos genes lipogénicos está asociada al desarrollo de ES (LXRApha +126%, PPAR-gamma +132%, SREBP-1c +165%, FAS +107%, respecto a HN). Tanto en los pacientes con HGNA como en aquellos con VHC se observó una inducción de los genes inflamatorios TNF-alfa, IL-6, osteopontina (OPN), iNOS, COX-2 y del gen SOCS-3. Sin embargo, la expresión de TNF-alfa, IL-6 y OPN resultó parcialmente inhibida en aquellos pacientes que habían desarrollado EH (TNF-alfa -25%, IL-6 -37%, OPN -57%, respecto a ES), coincidiendo con la mayor concentración de proteína LXRApha (+48%, respecto a ES).

Conclusiones: En nuestro estudio, la expresión de LXRApha y de sus genes diana lipogénicos e inflamatorios está incrementada en los pacientes con HGNA y en los pacientes con VHC asociado a ES. Dichos resultados identifican a LXRApha como un factor relevante en la patogenia de la ES en dichas enfermedades hepáticas crónicas.

Financiado por G/467B01/64000/3, BFU2007-62977 y SAN673/LE06/08 de la Conserjería de Sanidad de JCyl. CIBERehd está financiado por el Instituto de Salud Carlos III (España).

P-97. LA LEPTINA ESTIMULA LA FIBROGÉNESIS HEPÁTICA POR MECANISMOS MULTIFACIALE

T. Díaz-Sanjuán, E. Gómez-Izquierdo, I. García-Ruiz, C. Rodríguez-Juan, P. Solís-Muñoz, T. Muñoz-Yagüe y J.A. Solís-Herruzo

Centro de Investigación. Hospital 12 de Octubre. Madrid. España.

Objetivos: Conocer los mecanismos por los que la leptina (LPT) estimula la fibrogénesis hepática.

Material y métodos: En cultivos primarios de células estrelladas del hígado (CEH) estudiamos los efectos de dosis crecientes de LPT sobre: (1) expresión genética del colágeno $\alpha 1(I)$ (COL1), (2) metaproteinasa-13 (MMP13), (3) TIMP-1 (RT-PCR) y (4) apoptosis de las CEH expuestas a TNF α y gliotoxina (ELISA), (4) identificación de las regiones en los promotores del COL1 y MMP13 donde la LPT ejerce sus efectos (transfección celular con plásmidos portadores de regiones de esos genes), (5) Factores de transcripción y quinasas implicadas en la transmisión de señal (EMSA, inhibidores de quinasas: PD98059, SB203580, SP600120, LY294002).

Resultados: (1) la LPT aumenta la expresión genética del COL1 con efecto máximo a las 6 horas con 100 ng/ml. Este efecto lo ejerce actuando sobre las regiones FP2 (-112/-130) y FP3 (-132/-160) con la participación de los factores de transcripción Sp1 y Sp3 fosforilados. Estos efectos son abolidos tratando las células con mitramicina y con PD98059, lo que indica la participación de Sp1 y su fosforilación por ERK. Los inhibidores de otras quinasas (p38, JNK, PI3K) no anulan los efectos de la LPT. (2) Las mismas dosis de LPT disminuye la expresión genética de la MMP13 (x0,2) y aumenta la de TIMP-1 (x18,9). Este efecto no existe si la región de AP1 en el promotor de la MMP13 está mutada. (3) La LPT aumenta la supervivencia de las CEH en condiciones de muerte inducida por gliotoxina y TNF α .

Conclusiones: La LPT estimula la fibrogénesis hepática actuado a varios niveles: aumenta la supervivencia de las CEH, estimula la expresión genética del COL1 y disminuye su degradación por inhibir la expresión de las MMP13 y estimular la de su inhibidor TIMP-1.

P-98. HIPERHOMOCISTEINEMIA Y POLIMORFISMOS DEL GEN DE LA MTHFR, C677T: RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD HEPÁTICA GRASA NO-ALCOHÓLICA

J.A. Chirinos^a, M. Pérez-Carreras^a, C. Fernández-Miranda^b, G. López-Alonso^c, R. Ayala^d, C. Arribas^a y G. Castellano^a

^aServicio de Medicina del Aparato Digestivo.

^bDepartamento de Medicina Interna.

^cDepartamento de Anatomía Patológica.

^dDepartamento de Hematología.

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. España.

Introducción: Existen evidencias científicas que implican a la homocisteína y a la mutación de la metilentetrahidrofolato reduc-tasa (MTHFR), enzima fundamental en el metabolismo de la homocisteína, en la patogenia de la EHGNA y en su progresión histológica. Sin embargo, en la mayoría de los estudios los pacientes incluidos no tienen un diagnóstico histológico de EHGNA y, según nuestro conocimiento, no hay información al respecto en una población española.

Métodos: Estudio prospectivo observacional comparativo de una cohorte de 43 pacientes con diagnóstico histológico de EHGNA vs una población control de 45 sujetos sin factores de riesgo para EHGNA, con transaminasas normales y ultrasonografía hepática sin esteatosis. En ambos grupos se determinaron y compararon estadísticamente las siguientes variables: factores del síndrome metabólico, insulinenia e insulonorresistencia, vitamina B12, ácido fólico, homocisteinemia y el polimorfismo C677T de la MTHFR. En el grupo de pacientes se analizó la correlación entre la homocisteinemia y la mutación MTHFR con el grado de esteatosis, el NAS score y el estadio de fibrosis.

Resultados: La presencia de hiperhomocisteinemia y de la mutación en homocigosis de la MTHFR, C677T fueron significativamente más frecuentes en el grupo con EHGNA vs controles (36% vs 7% y 31% vs 9%, respectivamente, ambas con $p < 0,01$). No encontramos asociación estadística entre la homocisteinemia y la presencia de la mutación MTHFR con los factores metabólicos epidemiológicos de la EHGNA ni con el grado de lesión histológica.

Conclusiones: 1. La hiperhomocisteinemia y la mutación homocigótica del gen de la MTHFR, C677T son más frecuentes en los pacientes con EHGNA; 2. Ambos hallazgos no se asocian con los factores de riesgo metabólicos de la EHGNA ni con la severidad de la lesión histológica en nuestro estudio.

P-99. EL ÍNDICE ABIC Y LA CANTIDAD DE ALCOHOL CONSUMIDA PREDICEN EL PRONÓSTICO DE PACIENTES CON HEPATITIS ALCOHÓLICA EN UNA COHORTE MEXICANA

J. Altamirano^a, F. Higuera^c, M. Martínez^d, L. Zapata^b, J.L. Pérez^c, J.A. González^d, M. Domínguez^a, P. Ginés^a, J. Caballería^a y R. Bataller^a

^aUnidad de Hígado. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic i Provincial. IDIBAPS. CIBERehd. Barcelona. España.

^bHospital Juárez. México. México.

^cHospital General de México O.D. México.

^dHospital Universitario Dr. José E. González UANL. México.

Introducción: La mortalidad de los pacientes con formas severas de hepatitis alcohólica (HA) es muy elevada. La estratificación pronóstica de estos pacientes favorecería la optimización del tratamiento y la realización de ensayos clínicos. En México, el índice discriminante de Maddrey (IDM) es utilizado para identificar los pacientes tributarios a tratamiento con corticoesteroides. Un reciente estudio español desarrolló el índice ABIC, que permite la estratificación pronóstica de estos pacientes. Nuestro objetivo fue la evaluación pronóstica del índice ABIC a corto y largo plazo en una cohorte de HA de diferentes centros mexicanos.

Métodos: Se revisó las historias clínicas de pacientes con diagnóstico clínico de HA en 3 centros mexicanos entre (2006-2008). Se recogieron datos epidemiológicos, clínicos y analíticos, analizando de manera exhaustiva la cantidad de consumo de alcohol previa al ingreso. El método de regresión de Cox se utilizó para los análisis univariado y multivariado. Se calculó el IDM, el MELD, el Glasgow y el ABIC al ingreso y su eficacia pronóstica y mejor punto de corte se evaluó mediante el análisis del área bajo la curva ROC (ABCROC). Para el análisis de supervivencia se utilizó el método de Kaplan-Meier y prueba de log-rank.

Resultados: Un total de 135 pacientes fueron incluidos en la cohorte de estudio. La edad, valor de creatinina, urea, INR y bilirrubina al ingreso y la cantidad de consumo de alcohol fueron las variables independientes asociadas a mortalidad intrahospitalaria y a 90 días. Al año, sólo la edad y el valor de bilirrubina estuvieron independientemente asociadas a mortalidad. Las ABCROC de los diferentes índices pronósticos en mortalidad intrahospitalaria, a 90 días y 1 año fueron, respectivamente: IDM 0,76, 0,81, 0,82; MELD 0,80, 0,82, 0,83; Glasgow 0,77, 0,79, 0,80 y ABIC 0,81, 0,85, 0,87, respectivamente. En el análisis de supervivencia, el índice de ABIC estratificó adecuadamente los pacientes en 3 grupos con riesgo alto, moderado y bajo de mortalidad intrahospitalaria, a 90 días y a 1 año. Asimismo, los pacientes con un consumo de alcohol superior a 120 g/día en los últimos 3 meses mostraron tener una peor supervivencia intrahospitalaria ($p < 0,001$) (ver figura en página siguiente).

Conclusiones: El índice ABIC obtenido al ingreso es útil en la estratificación pronóstica de pacientes con AH, tanto en mortalidad precoz como a largo plazo. La cantidad de alcohol consumida se asocia a una mayor mortalidad intrahospitalaria en pacientes con HA.

P-100. ALTERACIÓN EN LA HOMEOSTASIS HEPÁTICA DE COLESTEROL EN UN MODELO ANIMAL DE ESTEATOSIS VINCULADA A OBESIDAD

P. Aspichuela, X. Buqué, B. Ochoa y O. Fresnedo

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

Introducción: La esteatosis hepática, primera fase de la enfermedad del hígado graso no alcohólica, se caracteriza por un acúmulo de lípidos en forma de gotas en el citoplasma celular. Trabajos recientes apuntan a que más que la cantidad de lípido es su composición uno de los factores que predisponen al avance de la enfermedad (J Hepatol 2009). Estudios realizados en nuestro laboratorio en ratas Zucker obesas muestran que junto con el acúmulo de triglicéridos se produce un acúmulo de colesterol esterificado, más marcado en animales de 9 semanas que de 12, concomitante con un descenso en los niveles de colesterol libre en los de 12 semanas.

Objetivos: Indagar en la naturaleza de los fenómenos subyacentes a los cambios observados en el contenido en colesterol esterificado y libre en la rata Zucker obesa, un modelo de esteatosis hepática asociada a obesidad.

Métodos: Se utilizaron animales de 2 edades distintas con grado de esteatosis creciente y se determinaron los niveles de mRNA de las principales enzimas, receptores y factores de transcripción involucrados en el metabolismo de colesterol, así como las principales actividades enzimáticas de las enzimas encargadas de la hidrólisis y reesterificación del colesterol esterificado en el hígado.

Resultados: Se produce un descenso en la actividad colesterol éster hidrolasa (CEH) microsomal y citosólica, más marcado en ambos casos en animales de 9 semanas, y acompañado de una disminución en los niveles de su ARNm. No se han encontrado alteraciones en la actividad basal ni en la máxima a concentraciones saturantes de sustrato de la acil-CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT)-2, responsable de la esterificación de colesterol para su almacenamiento. Sin embargo, observamos que los niveles de su ARNm están aumentados principalmente a las 12 semanas. Además,

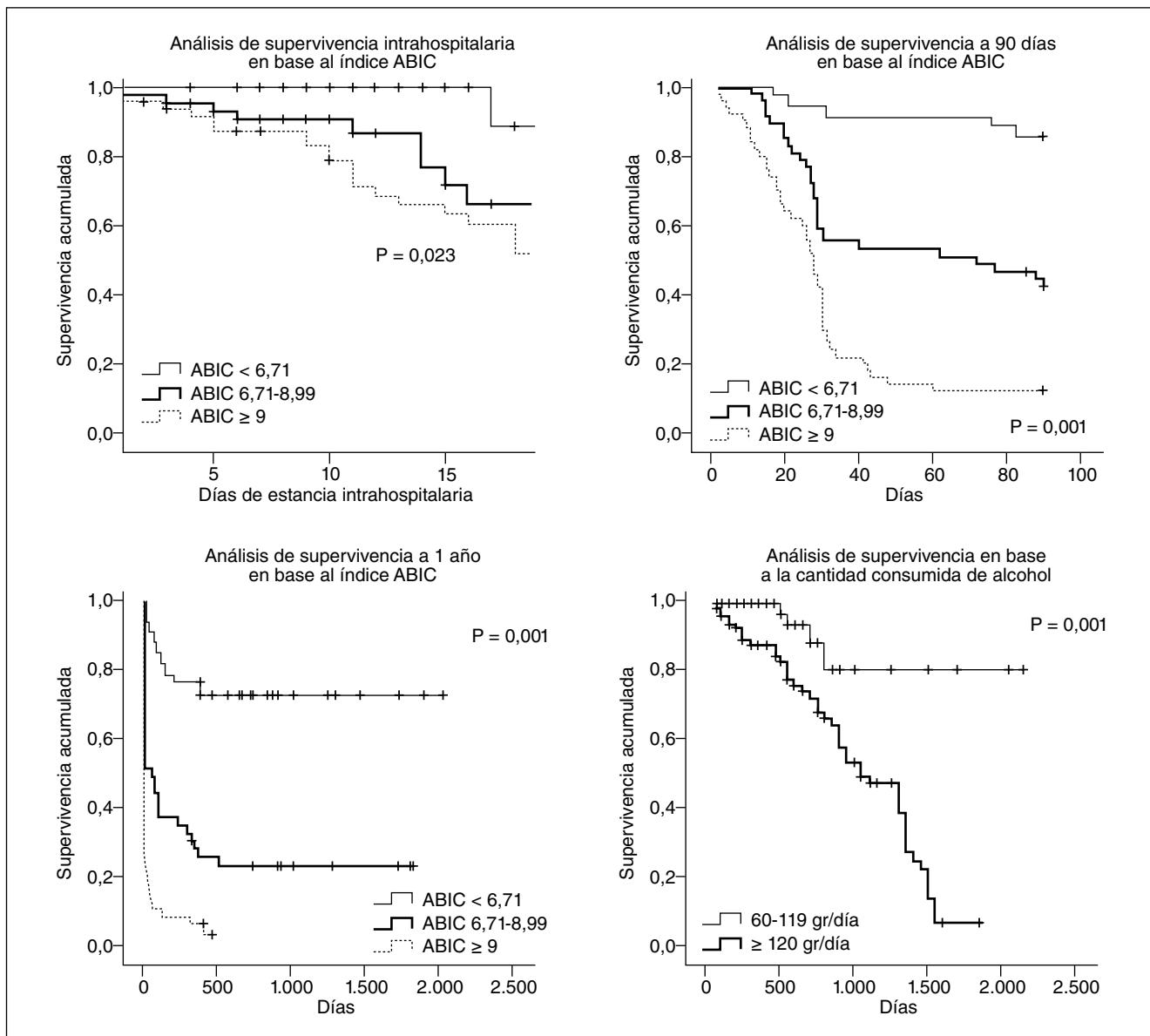


Figura 1

a las 9 semanas se observa una disminución en la expresión génica del factor de transcripción SREBP-2, no produciéndose otras modificaciones en el resto de parámetros analizados.

Conclusiones: En este modelo animal de esteatosis asociada a obesidad, el descenso generalizado en la actividad CEH hepato celular podría ser el responsable de las alteraciones observadas en el contenido hepático de colesterol.

P-101. EFECTOS MITOCONDRIALES HEPÁTICOS DIRECTOS DE 2 TIAZOLIDINDIONAS: PIOGLITAZONA Y ROSIGLITAZONA

M.N. Sanz^a, C. Sánchez-Martín^a, D. Detaille^a, X. Leverve^b y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^bINSERM U844. Université Grenoble I. Grenoble. Francia.

Introducción: Las tiazolidindionas (TZDs), pioglitazona (PIO) y rosiglitazona (ROSI), son una clase de antidiabéticos orales caracterizados por controlar la glucemia sensibilizando los tejidos periféricos a la acción de la insulina mediante activación de los receptores nucleares activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ). Existen escasos ejemplos en la literatura de acciones directas, independientes de la activación de PPAR γ , de las TZDs sobre la función mitocondrial hepática.

Objetivos: Investigar "in vitro" las acciones directas de PIO y ROSI sobre la respiración (JO₂), la eficacia de la fosforilación oxidativa (P/O) y la producción de radicales libres (ROS) en mitocondrias aisladas de hígado.

Material y métodos: Las mitocondrias se obtuvieron a partir de hígados de ratas Wistar macho mediante centrifugación diferencial. La respiración mitocondrial y la eficacia de la fosforilación oxidativa se midieron, en presencia y ausencia de PIO y ROSI (10, 25, 50 y 100 μ M) en oxímetro equipado con electrodo "de Clark". Como sustratos respiratorios se emplearon: glutamato/malato (GM)

y succinato/malato (S/M). La producción de ROS se determinó mediante técnica espectrofluorimétrica usando la sonda fluorescente de Amplex Red (λ excitación 560 nm; λ emisión 584 nm) sensible a la producción de H_2O_2 .

Resultados: En presencia del sustrato respiratorio G/M (sustrato del complejo respiratorio I) la respiración mitocondrial fue afectada de manera similar por PIO y ROSI de forma dosis dependiente, activando el estado 4 en un 50% a 100 μ M e inhibiendo el estado 3 (en presencia de ADP) también en un 50% a 100 μ M. Cuando el sustrato elegido fue S/M (sustrato del complejo respiratorio II), PIO y ROSI también activaron de forma dosis dependiente el estado 4 e inhibieron el estado 3, aunque en relación al sustrato GM, esta inhibición del estado 3 con SM fue del orden de un 15% y fue similar con todas las concentraciones de TZDs utilizadas. Dada la inhibición de la respiración por acción de PIO y ROSI, la eficacia de la fosforilación oxidativa (P/O) podría verse afectada. Los resultados indican que tanto PIO como ROSI no afectaron de manera significativa dicha eficacia. Ambas glitazonas, PIO y ROSI, produjeron una gran disminución en la producción de ROS mitocondrial (estimado en forma H_2O_2 mitocondrial) con los dos sustratos respiratorios empleados y a todas las concentraciones ensayadas.

Conclusiones: Pioglitazona y rosiglitazona ejercen acciones mitocondriales directas a nivel hepático no mediadas por los receptores nucleares PPAR γ , inhibiendo la respiración y disminuyendo la producción mitocondrial hepática de ROS. Estos efectos contribuirían eficazmente en las acciones antidiabéticas de las TZDs.

P-102. LA RESISTENCIA A LA INSULINA NO SE RELACIONA CON EL GRADIENTE DE PRESIÓN PORTAL BASAL NI CON SU RESPUESTA A LOS BLOQUEADORES BETA

E. Erice, E. Llop, S. Raffa, A. Berzigotti, J.G. Abraldes, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Unidad Hemodinámica Hepática. Hepatología. Hospital Clínic. IDIBAPS y CIBERehd. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: La resistencia a la insulina (RI) se ha involucrado en la patogenia de la disfunción endotelial en patologías cardiovasculares. En la cirrosis, donde existe disfunción endotelial intrahepática, se ha sugerido la existencia de una relación directa entre RI e hipertensión portal. La respuesta beta-adrenérgica, que comparte vía de señalización con la de la insulina, podría estar influida por la RI. Nuestro estudio pretende evaluar en pacientes cirróticos con hipertensión portal la relación entre RI y la hemodinámica hepática y sistémica y su respuesta al propranolol.

Pacientes y métodos: En pacientes con cirrosis hepática remitidos para iniciar profilaxis primaria se les realizó un cateterismo hepático y cardiopulmonar basal y 20 minutos después de la administración de propranolol. Se evaluó la RI utilizando el índice HOMA2 y el perfil glucémico con un TTOG (test tolerancia oral a la glucosa).

Resultados: Se incluyeron 27 enfermos, 47% VHC +, 75% con varices gastroesofágicas (VE) y una puntuación Child 7,5 (5-12). Todos, excepto 2, presentaron RI por HOMA2: 3,4 (1,5-6,1). El gradiente de presión portal (GPP; mmHg) fue de 18,7 (10-31,5). No existió ninguna relación entre RI (HOMA2) y el GPP ($r = 0,03$; $p = 0,9$), la presencia de VE, el Child o el MELD. Tampoco existieron diferencias si se clasificaban los pacientes de acuerdo a diferentes valores de HOMA2. De acuerdo con la glucemia basal y el TTOG, 18 enfermos fueron diabéticos y 9 no. Los diabéticos presentaron un HOMA2 superior a los no diabéticos ($3,6 \pm 1$ vs $2,8 \pm 1,4$; $p = 0,01$), pero ninguna diferencia en la hemodinámica hepática (GPP; mmHg: diabéticos 18,5 (12-31,50), no diabéticos 19 (10-22)) ni sistémica. El propranolol disminuyó el GPP un 15,3% (0-48,6). La respuesta del GPP al propranolol no se relacionó con la RI (HOMA2) y fue similar en enfermos diabéticos y no diabéticos ($-15 \pm 11\%$ vs $-16,7 \pm 13\%$; $p = 0,7$).

Conclusiones: Estos datos preliminares, sugieren que la RI y el perfil glucémico no se asocian con diferencias en el grado de hipertensión portal ni en la respuesta aguda a propranolol.

P-103. EL DAÑO OXIDATIVO REDUCE LA EXPRESIÓN GENÉTICA DE LAS SUBUNIDADES DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL (CRM) DE CODIFICACIÓN MITOCONDRIAL EN RATONES OB/OB

I. García-Ruiz, D. Fernández-Moreira, C. Rodríguez-Juan, T. Díaz-Sanjuán, P. Solís-Muñoz, T. Muñoz-Yagüe y J.A. Solís-Herruzo

Centro de Investigación. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. España.

Introducción: La actividad de la CRM se encuentra disminuida en los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica y en ratones obesos, ob/ob. En esos estudios sugerimos que el peroxinitrito pudiera ser el responsable de esas alteraciones. Los objetivos de este estudio fueron los de conocer las causas de esa baja actividad de la CRM y la expresión genética de las proteínas mitocondriales en ratones ob/ob.

Material y métodos: Todos los estudios los hemos realizado en ratones ob/ob tratados con suero salino o con 20 mg/día ácido úrico, 10 mg/Kg/día MnTBAP, un análogo de la superóxido dismutasa, o 10 mg/Kg/3/semana de anti-TNF α durante 12 semanas. El ensamblaje de los complejos lo determinamos mediante BN-PAGE de primera dimensión y sus subunidades por SDS-PAGE de segunda dimensión. La expresión genética de las subunidades de los complejos la medimos mediante RT-PCR y la concentración de 80 HdG en el ADN mitocondrial y genómico por un "kit" comercial.

Resultados: 1) La separación de los complejos en un sistema BN-PAGE muestra que en los ratones obesos la cuantía de los complejos que se encuentran completamente ensamblados está muy disminuida. El tratamiento de los ratones con ácido úrico, MnTBAP o anti-TNF α durante 12 semanas normalizó ese ensamblaje. 2) El estudio individualizado de las subunidades que forman los complejos I y III muestra que todas las subunidades estudiadas se encontraban muy disminuidas, principalmente las codificadas por el ADN mitocondrial. La subunidad Core 2 y FeS del complejo III, además de disminuidas, mostraban signos de degradación. 3) La transcripción genética de las subunidades de codificación mitocondrial (ND1, ND2, ND4, ND4L) está muy disminuida pero no las de codificación nuclear (39, 30, 17 kDa). El tratamiento de los ratones obesos con el antioxidante MnTBAP, con el ácido úrico o con anti-TNF α normalizó la cuantía de todas las subunidades estudiadas y su transcripción genética 4) La determinación del 8-OHdG, un marcador de daño oxidativo del ADN, en el ADN nuclear y mitocondrial mostró que su presencia está muy aumentada en el ADN mitocondrial pero no en el ADN nuclear.

Conclusiones: En los ratones ob/ob, el descenso de la actividad de la CRM se debe, al menos en parte, a estar disminuida la expresión genética de las subunidades de codificación mitocondrial, consecuencia de un daño oxidativo mitocondrial. El descenso de las subunidades codificadas por el ADN genómico debe tener otras causas (degradación por el peroxinitrito).

P-104. MARCADORES SEROLÓGICOS DE APOPTOSIS E INFLAMACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA

M.L. García-Torres^a, J.A. del Olmo^a, C. Montoliu^a, A. Urios^a, M. Civera^b, N. Cassinello^c, C. Faus^d, A. Escudero^a, F. Rodríguez^a, M.A. Serra^a y J.M. Rodrigo^a

^aServicio de Hepatología.

^bServicio de Endocrinología.

^cServicio de Cirugía.

^dServicio de Anatomía Patológica.

Hospital Clínico Universitario. Valencia. España.

Introducción: La enfermedad grasa del hígado no alcohólica tiene dos formas -esteatosis y esteatohepatitis- con marcada diferencia en la historia natural. El estudio histológico es la prueba principal para el diagnóstico. El objetivo del estudio consiste en valorar marcadores serológicos de apoptosis e inflamación que nos puedan diferenciar la esteatosis y la esteatohepatitis no alcohólica.

Métodos: a) Pacientes: Incluimos 46 pacientes con diagnóstico histológico de enfermedad hepática grasa no alcohólica, con edad media 47,3 + 7,3 años de los que 39 son mujeres. Grupo control: 19 sujetos sin sobrepeso, diabetes ni alteración de lípidos y normalidad de ecografía hepática. Se excluyeron infecciones víricas y alcoholismo. b) Estudio histológico: practicamos el Nonalcoholic Fatty Liver Disease Score midiendo los grados de esteatosis, fibrosis, inflamación, lesiones de los hepatocitos y otras lesiones. c) Determinamos en muestra venosa CK-18 Asp 396 (M30-Apotense) e interleucinas 6 y 18 (IL-6, IL-18) (Biotrak). d) Utilizamos programa SPSS 17.0 y analizamos diferencias de valores cualitativos y cuantitativos, correlaciones y sensibilidad y especificidad.

Resultados: Los diagnósticos histológicos en los pacientes fueron: 29 esteatosis y 17 esteatohepatitis. Comparativamente con el grupo de esteatosis, los pacientes con esteatohepatitis mostraron valores superiores de CK-18 ($t = 2,9$, $p = 0,008$), IL6 ($t = 4,2$, $p = 0,0001$) e IL18 ($t = 2,7$, $p = 0,008$). Al correlacionar los diferentes tipos de lesiones (esteatosis, fibrosis, inflamación, lesiones hepatocitarias y otras lesiones) con los marcadores, comprobamos que la CK-18 se correlacionó con las lesiones de hepatocitos ($r = 0,49$, $p = 0,001$) y con la fibrosis ($r = 0,31$, $p = 0,002$). La IL-6 con inflamación ($r = 0,42$, $p = 0,03$), fibrosis ($r = 0,48$, $p = 0,001$) y lesiones de hepatocitos ($r = 0,42$, $p = 0,001$), mientras que la IL-18 sólo mostró correlación con la fibrosis ($r = 0,34$, $p = 0,02$). El estudio del valor diagnóstico nos mostró que cuando coexiste elevación de CK-18 e IL-6 el diagnóstico de esteatohepatitis presenta una sensibilidad del 100% y especificidad del 89%.

Conclusiones: 1. El marcador serológico de apoptosis CK18 y los de inflamación (IL6 e IL18) muestran valores más elevados en la esteatohepatitis que en la esteatosis. 2. El CK-18 se correlaciona con los valores histológicos de lesiones de hepatocitos y fibrosis. 3. El aumento simultáneo de CK-18 y IL-6 presenta elevado valor para el diagnóstico de esteatohepatitis.

P-105. INVESTIGACIÓN DEL METABOLISMO ENERGÉTICO Y OXIDATIVO HEPÁTICO EN UN MODELO DE RATA CON ESTEATOHEPATITIS INDUCIDA POR DIETA DEFICIENTE EN COLINA Y METIONINA

C. Sánchez-Martín^a, D. Detaille^a, M.N. Sanz^a, M.V. Rascón-Trincado^b, A. Agil^c, J.M. González-Buitrago^d y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología.

^bDepartamento de Medicina.

Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^cDepartamento de Farmacología. Universidad de Granada. Granada. España.

^dUnidad de Investigación. Hospital Universitario de Salamanca. España.

Introducción: La esteatohepatitis no alcohólica es una importante enfermedad hepática que puede evolucionar a cirrosis y fallo hepático. Está bien documentado que la dieta deficiente en colina y metionina (dieta MCD) es un buen modelo nutricional experimental para el estudio de las lesiones hepáticas producidas en la esteatohepatitis. Los mecanismos implicados en el desarrollo de esta patología no están, hasta el momento, dilucidados.

Objetivos: Investigar el metabolismo hepático de la glucosa (glucólisis y gluconeogénesis) en hepatocitos aislados de hígados de ratas con esteatohepatitis inducida por dieta MCD, así como estudiar el efecto de la dieta MCD sobre diferentes aspectos de la función mitocondrial hepática.

Material y métodos: Las ratas (200-250 g) eran divididas en dos grupos, uno recibió una dieta estándar mientras que el otro era tratado con la dieta deficiente en colina y metionina durante 2 semanas. Los hepatocitos eran aislados a partir de los hígados de ratas de los diferentes grupos según la técnica de Berry y Friend, y eran perifundidos a 37 °C con Krebs-bicarbonato saturado con O₂/CO₂ y eran titrados con dihidroxiacetona (DHA) como sustrato energético para conseguir siete estados estacionarios consecutivos. En cada uno de ellos, se midió la producción de glucosa (JGlucosa) y de lactato más piruvato (JL + P) en el perifusato celular. Por otra parte, se investigó las consecuencias mitocondriales de la acumulación de triglicéridos en el hígado mediante la evaluación de la respiración y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en mitocondrias aisladas.

Resultados: En células hepáticas perifundidas, la dieta deficiente en colina y metionina causó una importante inhibición tanto de la gluconeogénesis (JGlucosa) como de la glucólisis hepáticas (JL + P). Además, también mostró un descenso de la relación L/P, que refleja un estado redox citosólico mucho más oxidado en comparación con el control. Por otro lado, las mitocondrias hepáticas aisladas de las ratas tratadas mostraban un mayor consumo de oxígeno en presencia de succinato, aunque sin variar su capacidad respiratoria en comparación con el control. Además, las ratas tratadas con la dieta mostraban una menor producción de ROS.

Conclusiones: Nuestros datos muestran que la dieta deficiente en colina y metionina causa una inhibición del metabolismo hepático global de la glucosa, pero también desencadena una respuesta a nivel mitocondrial, probablemente para contrarrestar la esteatosis inducida por este modelo. Podemos sugerir este modelo como una importante herramienta para la investigación de aproximaciones al tratamiento de la esteatohepatitis.

P-106. LA SOBREEXPRESIÓN DE PORFOBILINÓGENO DEAMINASA EN HEPATOCITOS PREVIENE LA INDUCCIÓN DE ATAQUE AGUDO Y LA NEUROPATÍA MOTORA EN EL MODELO MURINO DE PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

C. Unzu, A. Sampedro, I. Mauleón, L. Vanrell, J. Dubrot, R. Enríquez de Salamanca, G. González-Aseguinolaza, I. Melero, J. Prieto y A. Fontanellas

Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La porfiria aguda intermitente (PAI) se caracteriza por la deficiencia hepática de porfobilinógeno deaminasa (PBGD), que resulta en un considerable aumento en la producción y excreción de precursores de porfirinas.

Objetivos: Valorar los efectos protectores tanto del transplante de médula ósea sana como de la transferencia génica de PBGD en el hígado contra las manifestaciones fenotípicas de los ataques agudos en el modelo murino de PAI.

Métodos: Ratones PAI fueron irradiados con una dosis letal y, posteriormente, inyectados con 5×10^6 células nucleadas de médula ósea pertenecientes a ratones sanos o PAI. La transferencia génica al hígado se realizó mediante la administración hidrodinámica de plásmidos que expresaban la PBGD humana o el reportero luciferasa bajo el control de un promotor hepato-específico.

Resultados: La actividad de PBGD eritrocitaria aumentó 2,4 veces en los ratones PAI que recibieron el transplante de médula ósea de ratones sanos. Sin embargo, tras administrar fenobarbital a estos ratones, sufrieron los síntomas típicos del ataque agudo, como el aumento masivo de precursores de porfirinas en la orina o la disminución de la coordinación motora. La actividad de PBGD hepática aumentó 2,2 veces en los ratones inyectados con el plásmido terapéutico. Los ratones inyectados con el plásmido control de luciferasa presentaron un elevado aumento en la excreción de pre-

cursores de porfirinas tras la administración de fenobarbital, mientras que los ratones inyectados con el plásmido terapéutico únicamente mostraron un ligero aumento. Además, la descoordinación motora inducida por el fenobarbital fue prácticamente abolida en estos ratones.

Conclusiones: La actividad eritroide de la enzima PBGD no está asociada con las manifestaciones fenotípicas de la porfiria aguda. No obstante, la sobreexpresión de PBGD en número limitado de hepatocitos reduce la acumulación de precursores, característico de los ataques agudos de porfiria. Por consiguiente, la terapia génica dirigida al hígado ofrece una alternativa al trasplante hepático para pacientes con porfirias hepáticas que sufren ataques recurrentes y severos.

P-107. NUEVOS MECANISMOS EN LA REGULACIÓN DE LA RESPUESTA DE FASE AGUDA EN EL HÍGADO: PAPEL DEL EGFR Y SU LIGANDO ANFIREGULINA

M. Santamaría, A. Pardo-Saganta, M.U. Latasa, J. Castillo, J. Prieto, C. Berasain y M.A. Ávila

Área de Hepatología y Terapia Génica. CIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La modulación de la reacción de fase aguda (APR) que ocurre durante la inflamación y la regeneración hepática es importante para permitir la proliferación hepatocelular y la restauración de la homeostasis. Observaciones previas sugieren que la acción de citoquinas de la familia de la interleuquina 6 (IL6), principales estimuladores de la expresión de las proteínas de fase aguda (APP), puede ser modulada por factores de crecimiento cuya expresión se induce también durante la APR. La anfiregulina (AR) es un ligando del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) cuya expresión se induce en respuesta a estímulos inflamatorios y participa en la regeneración hepática. Hemos estudiado el posible papel del sistema AR/EGFR en la modulación de las expresión de APPs.

Métodos: La expresión de APPs se evaluó en el hígado de ratones AR+/+ y AR-/ durante la respuesta inflamatoria (LPS) y la regeneración tras hepatectomía parcial (HP). Estudios mecanísticos y la interacción entre la señalización celular de la AR y citoquinas de la familia de la IL6 como la oncostatina M (OSM) se llevaron a cabo en hepatocitos en cultivo y células de hepatocarcinoma.

Resultados: La expresión de genes codificantes para APPs fue muy superior en el hígado de ratones AR-/ que en los ratones AR+/+ durante la inflamación y la regeneración tras HP. La expresión de estos genes también fue significativamente superior en hepatocitos en cultivo primario aislados de ratones AR/-, y en células de HCC humano en las que la expresión de la AR fue inhibida mediante siRNAs. La AR interfiere la activación de STAT3 y la inducción de APPs mediada por la OSM en hepatocitos.

Conclusiones: Nuestras observaciones apoyan la relevancia del sistema del EGFR en la modulación de la APR, e identifican a la AR como un regulador de esta respuesta durante la inflamación y la regeneración hepática.

P-108. S-NITROSO-N-ACETILCISTEÍNA REDUCE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN UN MODELO ANIMAL DE CIRROSIS

I. Crespo^a, R. Vercelino^b, M.J. Cuevas^a, B. San-Miguel^a, M. Oliveira^c, N.P. Marroni^b, M. González-Gallego^a y M.J. Tuñón^a

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Instituto de Biomedicina. León. España.

^bLaboratorio de Hepatología Experimental y Fisiología. Porto Alegre. Brasil.

^cUniversidad de Campinas. Brasil.

Introducción: La fibrosis hepática es una respuesta del hígado al daño crónico que, sin un tratamiento eficaz en las etapas iniciales, progresa de forma irreversible a cirrosis. Se caracteriza por la activación de células estrelladas mediada por diversas citoquinas y un incremento en la síntesis de colágeno asociado a cambios en metaloproteinasas de la matriz extracelular. La S-nitrosación de la N-acetilcisteína origina el S-nitrosotiol S-nitroso-N-acetilcisteína (SNAC), un donador de óxido nítrico que inhibe la peroxidación lipídica y que ha demostrado tener un efecto protector en la esteatohepatitis no alcohólica.

Objetivos: Determinar si el tratamiento con SNAC reduce el estrés oxidativo y la fibrosis en ratas con cirrosis biliar.

Métodos: La cirrosis biliar secundaria se indujo en ratas macho de raza Wistar mediante ligadura del conducto biliar común durante 4 semanas (LCB). La SNAC (6,0 mmol/kg/día) se administró durante 7 días, comenzando el tratamiento 14 días después de la cirugía.

Resultados: El tratamiento con SNAC redujo el incremento producido por la LCB en las actividades de ALT, AST y fosfatasa alcalina y atenuó las alteraciones histológicas disminuyendo de forma marcada el grado de fibrosis hepática. Además, los incrementos de los TBARS y de la quimioluminiscencia inducida por hidroperóxidos fueron reducidos de forma significativa por el tratamiento. SNAC disminuyó la expresión del colágeno 1-alfa, alfa-actina de músculo liso (alfa-SMA), factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), metaloproteinasa-2 (MPP2), inhibidor de la metaloproteinasa-1 (TIMP1), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) en las ratas sometidas a LCB. Estos efectos se acompañaron por una inhibición en la activación de quinasas reguladoras de señales extracelulares (ERK1/2), jun quinasa terminal (JNK), p38 y Akt.

Conclusiones: La administración de SNAC ejerce unos marcados efectos antifibrogénicos en ratas con cirrosis biliar secundaria mediante la regulación de genes implicados en la producción de la matriz extracelular. Por ello, la SNAC podría ser un candidato interesante en el tratamiento de la fibrosis y cirrosis humana.

P-109. LA INMUNOSUPRESIÓN FARMACOLÓGICA PERMITE LA READMINISTRACIÓN DE ADENOVIRUS RECOMBINANTES PARA TRANSFERENCIA GÉNICA DEL HÍGADO EN PRIMATES NO HUMANOS

A. Fontanellas^a, S. Hervás-Stubbs^a, I. Mauleón^a, J. Dubrot^a, U. Mancheño^a, M. Collantes^b, A. Sampedro^a, C. Unzu^a, R. Enríquez de Salamanca^c, A. Palazón^a, A. Benito^d, J. Prieto^{a,e}, I. Peñuelas^{b,f} e I. Melero^a

^aDepartamento de Terapia Génica y Hepatología. Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^bUnidad de Investigación MicroPET. CIMA-CUN. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^cCentro de Investigación. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. España.

^dDepartamento de Radiología. Clínica Universidad de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^eCIBERehd. España.

^fDepartamento de Medicina Nuclear. Clínica Universidad de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La readministración de virus en terapia génica está obstaculizada por la reacción del sistema inmune del individuo receptor contra el vector y el transgén. Entre los métodos disponibles para evitar ésta reacción anti-vector se encuentran la inmunosupresión farmacológica o la variación entre diferentes vectores con el mismo transgén. El tropismo hepático de los adenovirus constituye una ventaja para su uso en terapia génica de enfermedades que afectan a este órgano.

Objetivos: Evaluar el efecto de la inmunosupresión farmacológica en la transferencia de genes al hígado de primates no humanos tras administraciones sucesivas del mismo vector adenoviral.

Métodos: Primates no humanos (macaca fascicularis) fueron inyectadas con $1,4 \times 10^{12}$ partículas virales por dosis, iv, de un adenovirus recombinante de primera generación portador del gen de la timidina kinasa (AdCMVHSV1-tk). El protocolo de inmunosupresión incluye (i) Rituximab (20 mg/kg/dosis iv) en los días -9, -6, -3, inmediatamente antes de la inyección del adenovirus y semanalmente tras su administración, (ii) globulina anti-timocítica de conejo (ATG, 3 mg/kg, Genzyme Polyclonals, SAS, Francia) en los días -2 y -1. (iii) methylprednisolona (Solu-moderin, Pfizer SA, España) 10 min antes de la infusión de ATG, a una dosis de 100 mg en el día -2 y 50 mg en el día -1. (iv) 25-30 mg Mycophenolato mofetil/kg/día de (MMF, CellCept, Roche Pharma AG, Demark) (v) 0,25 mg FK506/kg/día. MMF y FK506 se administraron diariamente, vía oral, entre los días -2 y el final del estudio.

Resultados: Nuestros estudios muestran que la depleción de células B con anticuerpos monoclonales anti-CD20 y la inhibición concomitante de células T mediante fármacos utilizados en clínica permiten la repetición de la transferencia génica al hígado mediante adenovirus recombinantes en primates no humanos. La transferencia del gen reportero HSV-1 timidina kinasa (tk) mediada por el vector adenoviral se visualizó in vivo mediante la técnica semi-quantitativa de tomografía por emisión de positrones (PET), inmunohistoquímica e inmunoblot del transgén reportero en biopsias del hígado. También se monitorizaron las respuestas mediadas por anticuerpos neutralizantes y células T contra las cápsides virales y su represión por la combinación de fármacos inmunosupresores.

Conclusiones: La técnica no invasiva de PET permite visualizar la transferencia de genes al hígado. El tratamiento de inmunosupresión temporal en macacos con fármacos de uso clínico neutraliza la respuesta inmune humoral y celular y permite la re-administración del mismo vector adenoviral portador del gen reportero HSV1-tk. Esta estrategia permite repetir y cuantificar la transferencia al hígado en macacos hasta siete meses desde la primera exposición al adenovirus, que en total recibieron tres tratamientos con el mismo vector.

P-110. EFECTO DE LA HOMOCISTEÍNA Y DEL ÁCIDO FÓLICO EN LA FUNCIÓN PLAQUETARIA DE RATAS CON LIGADURA DEL CONDUCTO BILIAR

P.A. Romecín, J.E. Millán, A.B. Meseguer, M.C. Ortiz, F. Cagnolini, E. García, N.M. Atucha y J. García-Estañ

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Murcia. España.

Introducción: La cirrosis hepática cursa con alteraciones hemostáticas, que normalmente producen un incremento del riesgo de sangrado, aunque se ha descrito que entre un 9-20% de los enfermos puede sufrir trombosis venosa. La hiperhomocisteinemia, frecuente en estos pacientes, es considerada un factor de riesgo para el desarrollo de trombosis. Una disminución del ácido fólico puede contribuir a la actividad trombogénica, por su implicación en el metabolismo de la homocisteína (Hcy).

Objetivos: Investigar el papel de la Hcy y del ácido fólico en la función plaquetaria de ratas con cirrosis hepática experimental.

Métodos: Los experimentos se realizaron en ratas cirróticas (mediante ligadura del conducto biliar; LCB) y sus controles. La agregación plaquetaria en respuesta a ADP (5 microM) se midió en plasma rico en plaquetas mediante un lumíagregómetro. Para la medición de los cambios en la concentración de Ca²⁺ intracelular ([Ca²⁺]i) y radicales libres (RL) en respuesta a trombina (0,3 U/mL), ADP (5 μM) y Hcy (10 a 100 μM), las plaquetas fueron incubadas con Fura-2 y CM-H2DCFDAacetil-éster, respectivamente, y analizadas por espectrofotometría de fluorescencia. En algunos expe-

rimientos, los animales fueron tratados con ácido fólico en el agua de bebida (8 mg/Kg/día).

Resultados: En ambos grupos LCB y control, el tratamiento agudo con Hcy produjo un incremento similar en la agregación plaquetaria en respuesta a ADP, que se acompañó de un mayor aumento de la [Ca²⁺]i y de la producción de RL. El tratamiento crónico con ácido fólico disminuyó la respuesta de agregación un 12% en plaquetas de ratas controles y un 50% en las LCB. Además, este tratamiento redujo la producción de RL en respuesta a trombina, eliminando las diferencias entre las plaquetas de animales cirróticos y controles.

Conclusiones: El tratamiento crónico con ácido fólico tiene efecto antiagregante en los animales con LCB debido en parte a la atenuación en la producción de ROS. Este tratamiento puede ser útil en la prevención del tromboembolismo venoso de la cirrosis hepática.

Este estudio fue apoyado por un Proyecto del Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2006-9127).

P-111. HISTORIA NATURAL DE LA HEPATOPATÍA TÓXICO-MEDICAMENTOSA EN UNA COHORTE IDENTIFICADA EN 24 HOSPITALES

Y. Borraz^{a,b}, M.C. Fernández^c, M. Romero-Gómez^{a,d}, J.A. Durán^e, A. Melcón de Dios^e, R. Planas^f, J.M. Navarro^{a,g}, S. Blanco^h, S. Ávilaⁱ, R. Pérez-Álvarez^j, F. Pons^{a,k}, J. Primo^l, A. Castiella^m, E. Zapata^m, J. Salmerón^{a,n}, A. Gilaⁿ, J.A. Solís-Herruzo^o, M. Bruguera^o, R. Solá^p, M.I. Lucena^{a,b} y R.J. Andrade^{a,b}

^aCentro de Investigación Biomédica en Red: Enfermedades Hepáticas y Digestivas CIBERehd. España.

^bUnidad de Hepatología y Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. España.

^cServicio de Aparato Digestivo. Hospital Torrecárdenas. Almería. España.

^dServicio de Aparato Digestivo. Hospital Valme. Sevilla. España.

^eServicio de Farmacología Clínica. Hospital Virgen Macarena. Sevilla. España.

^fServicio de Aparato Digestivo. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

^gServicio de Aparato Digestivo. Hospital Costa del Sol. Málaga. España.

^hServicio de Aparato Digestivo. Hospital Basurto. Vizcaya. España.

ⁱServicio de Aparato Digestivo. Hospital Xeral Cies. Lugo. España.

^jServicio de Aparato Digestivo. Hospital Central de Asturias. Oviedo. España.

^kServicio de Aparato Digestivo. Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. España.

^lServicio de Aparato Digestivo. Hospital Sagunto. Valencia. España.

^mServicio de Aparato Digestivo. Hospital Mendaro. Guipúzcoa. España.

ⁿHospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

^oServicio de Farmacología. Hospital 12 de Octubre. Madrid. España.

^pServicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínic. Barcelona. España.

^qServicio de Aparato Digestivo. Hospital del Mar. Barcelona. España.

Introducción: La evolución a largo plazo de la hepatotoxicidad no es completamente conocida. Datos recientes sugieren que entre un 6% a un 33% de los pacientes podrían evolucionar a la cronicidad.

Objetivos: analizar de forma parcialmente prospectiva utilizando variables clínicas e histológicas una cohorte de pacientes con hepatopatía tóxica identificados en 24 centros a través del Registro Español de Hepatotoxicidad e 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 desde 2001-2003, evaluados por CIOMS y que no cumpliesen criterios de exclusión (enfermedad he-

	N crónicos/ n total	% crónicos
Andrade RJ et al. Hepatology 2006	28/493	5,7
Chalasani N et al. Gastroenterology. 2006. (DILIN)	32/141	23
Björnsson et al. Aliment Pharmacol Ther. 2007	3/50	6
Cohorte Málaga, 2007	12/78	15,4
Cohorte España, 2009	43/254	16,9

pática subyacente, exitus, fallo hepático fulminante o trasplante hepático). Se definió cronicidad como la persistencia de las alteraciones hepáticas más de 3 (daño hepatocelular, HC) o 6 meses (colestásica/mixta, Col/Mix) tras la retirada del fármaco.

Resultados: 254 pacientes (59%) (edad media 53,1 años, 52,3% mujeres) cumplieron los criterios de inclusión, con un seguimiento promedio de 41 meses. El patrón de lesión predominante fue el HC (211/254, 83,1%). Hubo 5 éxitos no relacionados con la hepatotoxicidad. Cuarenta y tres (16,9%) pacientes evolucionaron a cronicidad predominando el patrón col/mix (23/43, 53,2%). El rash y la linopenia fueron más frecuentes entre el daño auto-limitado y el crónico (16,3% vs 6,4%, $p = 0,027$) y entre el daño HC y Col/Mix en los pacientes crónicos (5,3% vs 26%, $p < 0,05$). Además, la linopenia fue más frecuente en los pacientes crónicos con un tipo de daño HC (25% vs 8,7%, $p = 0,009$). La media de la duración del tratamiento fue mayor en los pacientes que evolucionaron a la cronicidad (206,4 vs 69 días, $p = 0,036$). En 25 casos crónicos (50% HC) persistió la lesión al final del seguimiento. Los grupos farmacológicos implicados fueron el Cardiovascular (23,3%), el Sistema Nervioso Central (20,9%), los Antiinfecciosos (18,6%) y el Sistema Musculoesquelético (9,3%).

Conclusiones: La evolución a la cronicidad en la hepatotoxicidad idiosincrásica no es tan infrecuente (16,9%). El patrón colestásico/mixto es más proclive a la evolución crónica, aunque la lesión hepatocelular es de mayor gravedad. La presencia de rash y la linopenia son marcadores asociados a la evolución a la cronicidad especialmente en el patrón hepatocelular. En estos pacientes la duración del tratamiento y la latencia fue mayor.

P-112. COLANGIOPATÍA PORTAL: FENÓMENO PRECOZ Y ESTABLE EN LA TROMBOSIS PORTAL QUE PROVOCÁ SÍNTOMAS CUANDO EXISTE DILATACIÓN BILIAR

E. Llop, C. de Juan, S. Seijo, A. García-Criado, J.G. Abraldes, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Servicio de Hepatología. IDIBAPS y CIBERehd. Centro de Diagnóstico por la Imagen. Hospital Clínic. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: Estudios transversales han mostrado alteraciones en la vía biliar intra y extrahepática (colangiopatía portal; CP) hasta en un 80% de pacientes con trombosis portal crónica (TPC). El presente estudio fue dirigido a evaluar la relación entre estas alteraciones radiológicas y la aparición de síntomas y la historia natural de la CP tras un episodio agudo de TP (TPA).

Pacientes y métodos: Se incluyeron 70 pacientes con TP, no asociada a cirrosis/neoplasia, a los que se les había practicado al menos una colangiopancreatografía (CRM). Los hallazgos de la CRM se clasificaron en CP grado-I (mínimas irregularidades del árbol biliar); grado-II (estenosis de la vía biliar sin dilatación); y grado-III (estenosis y dilatación biliar).

Resultados: En 31 pacientes existía un factor trombofílico, en 13 un factor local y en 26 eran de causa idiopática. La edad media era

de 45 años y el 60% eran hombres. 22 pacientes fueron diagnosticados durante la TPA y la probabilidad de desarrollar CP sintomática fue del 18,5% a los 5a. 48 pacientes se diagnosticaron con TPC y la probabilidad de CP sintomática fue del 8,4% a los 5a. Todos los pacientes con CP sintomática tenían CP grado-III. A 10 de los 22 pacientes con TPA, la CRM se practicó durante el primer año; 6 ya mostraban CP (3 grado-III). En los 12 pacientes restantes, la CRM se realizó más de 1 año después de la TPA: 9 tenían CP (5 grado-III). En 10 de los 14 pacientes sin CP grado-III, se realizaron CRM de seguimiento, en ninguno se observó progresión a grado-III tras un seguimiento medio de 40 m. De los 48 pacientes con TPC, la CRM mostró CP en 36 (26 grado-III; 54%). Los 12 restantes no tenían CP tras una mediana de 27 meses. En 14 pacientes sin CP grado-III, se realizaron CRM de seguimiento, ninguno desarrolló CP grado-III tras una mediana de 27 m.

Conclusiones: La CP se instaura de forma precoz en la TPA y se mantiene estable en el seguimiento, provocando síntomas únicamente cuando es grado-III. Estos datos permitirían iniciar de precozmente posibles estrategias preventivas de CP sintomática en estos pacientes.

P-113. INFLUENCIA DE LOS ALELOS DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (HLA) EN LA EXPRESIÓN FENOTÍPICA Y EVOLUCIÓN DEL DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO (DILI) POR AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO (AC)

C. Stephens^{a,b}, M.A López-Nevot^c, M.I. Lucena^{a,b}, F. Ruiz-Cabello^c, E. Ulzurrun^{a,b}, A. Serrano^d, M.C. Fernández^e, C. Guarner^{a,f}, M. Romero-Gómez^{a,g}, J.M. Navarro^h, J.L. Solís-Herruzoⁱ, J. Costa^j, R. Planas^{a,j}, A. Castiella^k, F. Pons^l, M. Moreno^m, J.L. Callejaⁿ y J. Salmerónⁿ

^aCentro de Investigación Biomédica en Red: Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

^bUnidades de Hepatología y Servicio de Farmacología Clínica:

^cHospital Virgen de la Victoria. Facultad de Medicina. Málaga. España.

^dServicio de Inmunología. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. España.

^eServicio de Bioquímica. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. España.

^fHospital Torrecárdenas. Almería. España.

^gHospital Sant Pau. Barcelona. España.

^hHospital Valme. Sevilla. España.

ⁱHospital Costa del Sol. Marbella. Málaga. España.

^jHospital 12 de Octubre. Madrid. España.

^kHospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

^lHospital Mendaro. Guipúzcoa. España.

^mHospital Marqués de Valdecilla. Santander. España.

ⁿHospital La Laguna. Santa Cruz de Tenerife. España.

^oHospital Puerta del Hierro. Majadahonda. Madrid. España.

^pHospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

Introducción: Con AC predomina el daño colestásico/mixto (col/mix) en poblaciones del norte de Europa. Sin embargo, hasta un 30% de casos españoles presentan un AC-DILI de tipo hepatocelular (HC). En un estudio previo presentamos las primeras evidencias de una asociación entre alelos HLA de clase II y DILI, aunque el efecto de la clase I se desconoce.

Objetivos: Investigar las asociaciones entre los alelos HLA y la susceptibilidad de desarrollar AC-DILI y si condicionan la expresión fenotípica.

Material y métodos: Se analizaron 57 pacientes diagnosticados de AC-DILI y evaluados por la escala de CIOMS, y 400 controles sanos. El genotipado de alta resolución de los loci de HLA clase I (A, B y C) y de HLA clase II (DRB1, DQB1), se realizó mediante PCR con sondas de oligonucleótidos específicos de secuencia.

Alelos	Controles (%) (n = 400)	DILI (%) (n = 57)	DILI vs con P(Pc)	HC (%) (n = 20)	HC vs con (%) P(Pc)	Col/mix (n = 37)	Col/mix vs Con P(Pc)
A*0101	94 (23,5)	4 (7,0)	0,006 (0,61)			4 (10,8)	NS
B*1801	61 (15,2)	17 (29,8)	0,008 (0,85)	10 (50,0)	0,00005 (0,01)	7 (18,9)	NS
DRB1*0701	122 (30,5)	9 (15,8)	0,03 (1)	2 (10,0)	NS	7 (18,9)	NS
DRB1*1501	65 (16,2)	18 (31,6)	0,007 (0,7)	5 (25,0)	NS	13 (35,1)	0,0058 (0,6)
DQB1*0202	117 (29,2)	8 (14,0)	0,02 (1)	2 (10,0)	NS	6 (16,2)	NS
DQB1*0602	68 (17,0)	18 (31,6)	0,01 (1)	5 (25,0)	NS	13 (35,1)	0,0092 (0,9)

PC, Corrección de Bonferroni de los 103 alelos. El alelo B*1801 de clase I se asoció al daño HC de AC-DILI (10/17, 59%; P = 0,01), que ocurrió en pacientes de menor edad (55 vs 66), que requirieron más frecuentemente hospitalización (76 vs 46%) y con peor evolución (1 muerte, 2 Tx vs 0) en comparación con los que presentaban el haplotipo DRB1*1501-DQB1*0602 que se asoció al daño col/mix (12/13, 92%). El alelo A*1010 y el haplotipo DRB1*0701-DQB1*0202 juegan un papel protector en el desarrollo de AC-DILI.

Resultados: La tabla muestra la diferencia en distribución de alelos HLA en las dos cohortes.

Conclusiones: La presencia del alelo B*1801 predispone al desarrollo de un daño HC en AC-DILI de peor evolución, mientras que el haplotipo DRB1*1501-DQB1*0602 juega un papel en el desarrollo del tipo col/mix. Las diferencias étnicas en las frecuencias del alelo B*1801 podrían explicar las variaciones en el desarrollo de daño HC entre poblaciones.

Financiación: Agencia Española de Medicamentos. CIBERehd financiado por ISCIII.

P-114. EL EFECTO ONCOSTÁTICO DE LA ADMINISTRACIÓN DE MELATONINA EN CÉLULAS HEPG2 ESTÁ RELACIONADO CON MODIFICACIONES EN LA EXPRESIÓN DE SUS RECEPTORES CELULARES

S. Carbayo-Pescador^a, J. Martín-Renedo^a, M. Piva^a, A. García-Palomo^b, M.J. Tuñón^a, J.L. Mauriz^a y J. González- Gallego^a

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) Instituto de Biomedicina. Universidad de León. León. España.

^bServicio de Oncología. Hospital de León. Complejo Asistencial de León. León. España.

Introducción: El carcinoma hepatocelular (HCC) es el tumor hepático maligno más frecuente. Pese a que su incidencia está aumentando, en nuestros días no existe aún un tratamiento específico y eficaz. Se ha descrito que la melatonina, una hormona indólica con actividad anti-oxidante e inmunomoduladora, pudiera tener capacidad oncostática en diversos tipos de tumores, entre ellos el HCC.

Objetivos: Determinar el efecto de la melatonina sobre el ciclo y la proliferación celular en células HepG2, derivadas de HCC humano, y si su potencial capacidad antitumoral está relacionada con modificaciones en la expresión de los receptores celulares de dicha hormona.

Métodos: Para el estudio se utilizaron células HepG2, tratadas durante 2, 4 y 6 días con distintas concentraciones de melatonina (1.000 μ M y 2.500 μ M) disuelta en medio de cultivo con DMSO al 0,2%; como control se utilizaron células HepG2 no tratadas o tratadas con vehículo. Se determinó la viabilidad celular y la distribución en las distintas fases del ciclo celular mediante MTT y citometría de flujo respectivamente. La cuantificación de la expresión génica y proteica de los receptores de membrana de la melatonina (MT1, MT2), el receptor mitocondrial (MT3), y el receptor nuclear (RORalpha) se llevó a cabo por Western Blot y qRT-PCR. También, se analizó la expresión de la proteína reguladora del ciclo celular p21 mediante ambas técnicas.

Resultados: El tratamiento con melatonina indujo una reducción en la proliferación celular dependiente de la dosis y el tiempo, al-

canzando el máximo a la concentración de 2500 μ M y 6 días de administración. El efecto anti-proliferativo se vio acompañado por cambios en la cinética del ciclo, con un aumento del porcentaje de células en G2/M y un descenso en G0/G1. Los grupos tratados presentaron mayores niveles de expresión de p21 que los controles. Además, se observó una sobreexpresión de los receptores MT1, MT3 y RORalpha tras la administración del indol.

Conclusiones: Se confirma el efecto oncostático de la melatonina en las células HepG2 derivadas de HCC humano, dicho efecto está relacionado con la sobreexpresión de alguno de sus receptores celulares (MT1, MT3 y RORalpha). Aunque es necesario profundizar más en los mecanismos implicados, nuestros experimentos parecen indicar que la melatonina podría representar una nueva herramienta, al menos como coadyuvante, en el tratamiento del HCC.

P-115. HUR/METHYLATED-HUR AND AUF1 REGULATE THE TYPE OF METHIONINE ADENOSYLTRANSFERASE EXPRESSED DURING LIVER PROLIFERATION, DIFFERENTIATION AND CARCINOGENESIS

D. Fernández-Ramos^a, M. Vázquez-Chantada^a, M. Varela-Rey^a, N. Embade^a, A. Woodhoo^a, N. Martínez-López^a, J. Caballeria^c, M. Gorospe^c, S.C. Lu^b, J.M. Mato^a y M.L. Martínez-Chantar^a

^aCIC bioGUNE. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Technology Park of Bizkaia. Bizkaia. España.

^bDepartment of Biochemistry. Vanderbilt University. Nashville. TN. EE.UU.

^cDivision of Gastrointestinal and Liver Diseases. USC Research Center for Liver Diseases. Southern California Research Center for Alcoholic Liver and Pancreatic Diseases and Cirrhosis. Keck School of Medicine. University of Southern California. EE.UU.

Introduction: Hepatic de-differentiation, liver development, cell proliferation and malignant transformation are essential process where the levels of hepatic S-adenosylmethionine are tightly controlled. This equilibrium is specifically maintained through the regulation of two genes, MAT1A and MAT2A. MAT1A is expressed in the adult liver and differentiated hepatocytes as part of the metabolic phenotype, while MAT2A is expressed in all extrahepatic tissues and is associated with liver proliferation. Nowadays the mechanism underlying the regulation of these expression patterns is not completely understood. In silico analysis of the 3' UTR mRNA of MAT1A and MAT2A revealed putative binding sites for AUF1 and HuR respectively. Based on these findings, we investigated the post-transcriptional regulation of MAT1A and MAT2A mRNA by AUF1, HuR and methyl-HuR in those biological processes.

Methods: Biotin pull-downs were performed to confirm the functionality of HuR and AUF1 binding sites. The changes in HuR, methyl-HuR and AUF1 were studied in cultured hepatocytes de-differentia-

tion, in liver fetal development and in human hepatocellular carcinomas (HCC). HuR, methyl-HuR and AUF1 protein levels were studied by western blot, and the MAT1A and MAT2A mRNA abundance by qPCR. The binding of HuR, methyl-HuR and AUF1 to MAT1A and MAT2A mRNA along the treatments, the liver development and the de-differentiation processes were assayed by RNA immunoprecipitation. Finally, immunofluorescence was developed in human HCCs.

Results: During hepatic de-differentiation the switch between MAT1A/MAT2A was supported by the increase of HuR and AUF1 mRNA. SAME treatment prevented this regulation through a mechanism that implies a shift in the balance of methyl-HuR/HuR and AUF1. Methyl-HuR was identified for the first time as an inhibitor of the mRNA stability, concretely of MAT2A mRNA hepatic. In addition, we observed a similar temporal distribution and a functional link between HuR, methyl-HuR, AUF1, MAT1A and MAT2A mRNA in fetal stages of liver development. Finally, an immunofluorescence analysis revealed increased levels of HuR and AUF1 as well as a decrease in methylated-HuR levels in human hepatocellular carcinoma versus control livers.

Conclusions: Our data support a role for AUF1 and HuR/methyl-HuR in liver proliferation, de-differentiation, development and HCC progression through MAT1A and MAT2A mRNA posttranslational regulation.

P-116. ESTUDIO DE LA MOVILIZACIÓN DE CÉLULAS STEM DE MÉDULA ÓSEA EN DISTINTAS ENFERMEDADES HEPÁTICAS

F.J. Aranguren, C. Sostres, J.A. Moreno, G. Azaceta, E. Solanas, S. Lorente, A. Campillo y T. Serrano

Servicio de Aparato Digestivo. HCU Lozano Blesa. Zaragoza. España.

Introducción: La hipótesis de que células stem de médula ósea (CSMO) participan en el proceso de regeneración hepática, cobra cada vez más relevancia. Sin embargo la mayoría de los datos disponibles se basan en trabajos en animales de experimentación.

Objetivos: Cuantificar la movilización de células progenitoras de médula ósea en distintos modelos de enfermedad hepática humana.

Material y métodos: Extracción de muestras sanguíneas en 5 pacientes con hepatitis aguda, 8 con enfermedad aguda sobre crónica, 8 con hepatopatía crónica descompensada y 8 controles. Mediante citometría de flujo y previo marcaje con anticuerpos específicos se cuantificó la población de células CD 34 positivas. De todos los pacientes se recogieron datos clínicos y analíticos relacionados con la función hepática y se calcularon los índices pronósticos Child-Pugh y MELD. Las variables cuantitativas continuas se compararon usando un test no paramétrico con el paquete estadístico SPSS.

Resultados: En los pacientes con hepatitis aguda se produce una gran movilización de precursores de médula ósea CD34+, siendo la media muy superior a la de los pacientes con hepatopatía crónica ($13,37 \pm 6,1$ vs $1,75 \pm 0,8$; $p < 0,05$). En los pacientes con enfermedad aguda sobre crónica se produce también un incremento de estas células precursoras ($7,1 \pm 4,6$), aunque en menor grado que en los pacientes con hepatitis aguda, pero significativamente mayor que en los pacientes con enfermedad crónica descompensada. Los valores encontrados en los pacientes crónicos, aunque menores, no presentaron diferencias estadísticamente significativas a los hallados en los controles. El grado de movilización de (CSMO), no se relacionó con ningún parámetro clínico ni analítico.

Conclusiones: En los pacientes con lesión aguda o aguda sobre crónica del hígado, se produce una movilización de células stem de médula ósea. Este dato podría apuntar a una implicación de la médula ósea en la regeneración hepática en este tipo de lesiones.

P-117. LOS PACIENTES CON TROMBOSIS PORTAL NO ASOCIADA A CIRROSIS O NEOPLASIA PRESENTAN, INDEPENDIENTEMENTE DE SU ETIOLOGÍA, UN ESTADO ADQUIRIDO DE HIPERCOAGULABILIDAD

S. Raffa, J.C. Reverter, S. Seijo, D. Tassies, A. Rodríguez-Villarrupla, R. Miquel, J.G. Abraldes, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Servicio de Hepatología. IDIBAPS y CIBERehd. Departamento de Hemoterapia y Hemostasia. Departamento de Patología. Hospital Clínic. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: Los pacientes con trombosis portal crónica no cirrótica no tumoral (TPCNC), a pesar de una histología y función hepática normal, presentan con frecuencia diferentes alteraciones en las pruebas de coagulación. Este estudio fue dirigido a evaluar el significado de dichas alteraciones.

Pacientes y métodos: Cincuenta pacientes estables consecutivos con TPCNC (48 ± 17 años, 62% hombres) secundaria a una trombofilia subyacente (32%), a factores locales (32%) o idiopática (36%) fueron incluidos en el estudio. A todos los pacientes se les determinó: Tiempo de protrombina (TP), tiempo parcial de tromboplastina (aPTT), factores de coagulación (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI y XII), antitrombina (AT), proteínas C y S, antígeno de von Willebrand (vWF-Ag), función de vWF (vWF:RCO), ADAMTS-13, dímero-D, complejos plasmina-antiplasmina (PAP), fragmentos de protrombina F1+2 (F1+2), factor VII activado (FVIIa) y potencial endógeno de trombina (ETP). Se usaron como control muestras de sangre de 50 individuos sanos de edad y sexo semejante.

Resultados: El TP y aPTT estaban prolongados en 38% de los pacientes. Los niveles plasmáticos de los factores procoagulantes (II, V, VII, IX, X, XI y XII) y factores anticoagulantes (AT, proteínas C y S) fueron significativamente inferiores en los pacientes que en el grupo control ($p < 0,001$). Además, los pacientes con TPCNC tenían un aumento de FVIII y vWF-Ag con bajos niveles ADAMTS-13 ($p < 0,001$). Estas alteraciones se asociaron, no obstante, con una capacidad normal del plasma para generar trombina medida por el ETP. Esto sugiere que, a pesar de la alteración en las pruebas de coagulación clásicas, los pacientes con TPCNC tendrían una capacidad para coagular normal. No obstante, los pacientes TPCNC tuvieron niveles de factor VIIa, F1+2, dímero-D y PAP significativamente superiores que los controles lo que indica una activación in vivo de la coagulación y la fibrinolisis. No existió relación entre el aumento de estos marcadores de hipercoagulabilidad y la etiología subyacente de la trombosis ni con otros datos epidemiológicos, clínicos o radiológicos.

Conclusiones: Los pacientes con TPCNC tienen un incremento en los marcadores de hipercoagulabilidad que es independiente de la existencia o no de una trombofilia subyacente y parece ser consecuencia directa de la TPCNC. Si este estado de hipercoagulabilidad puede aumentar el riesgo de nuevos eventos trombóticos, deberá ser evaluado en estudios futuros.

P-119. HIPERTENSIÓN PORTAL IDIOPÁTICA: IMPACTO DE LA HEMODINÁMICA HEPÁTICA Y DE LA ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN EN SU SOSPECHA CLÍNICA

S. Seijo-Ríos, E. Reverter, A. Berzigotti, J.G. Abraldes, M. Bruguera, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Servicio de Hepatología. IMDIM. Hospital Clínic. IDIBAPS. CIBERehd. Barcelona. España.

Introducción y objetivos: La hipertensión portal idiopática (HTPI) es una causa rara de hipertensión portal presinusoidal que con frecuencia es erróneamente diagnosticada como cirrosis al occasionar ambas entidades complicaciones semejantes junto con la posibilidad de interpretar mínimas lesiones en la biopsia hepática como error de muestreo. El presente estudio fue dirigido a evaluar

si parámetros hemodinámicos y de elasticidad de transición (ET) permiten establecer un alto índice de sospecha de HTPI.

Pacientes y métodos: En 44 pacientes remitidos a nuestra unidad diagnosticados de HTPI se realizó cateterismo de venas suprahepáticas (CVSH) (n = 40), cardiopulmonar (CCP) (n = 25) y mediciones de ET (FibroScan®) (n = 31).

Resultados: Todos los pacientes presentaban signos inequívocos de hipertensión portal (varices, ascitis o esplenomegalia) y en todos se descartó formalmente la presencia de cirrosis o hepatopatía crónica y de trombosis del eje esplenoportal. 26 (59%) pacientes eran varones. La edad media era 40 años. 38 (86%) pacientes presentaban varices esofágicas y/o gástricas, 11 (25%) ascitis. El CVSH mostró en 19 (43%) pacientes comunicantes entre diferentes venas hepáticas lo que impidió en 12 casos obtener una correcta presión enclavada. El gradiente de presión venosa hepática (GPVH) en los 28 pacientes con correcta presión enclavada era de 7 mmHg (2-14,5). En 6/28 (21%) el GPVH era normal (≤ 5 mmHg), en 7 (25%) ≥ 10 mmHg y en los 15 (54%) restantes los valores eran intermedios. Tres pacientes presentaban hipertensión porto-pulmonar. 41% de los pacientes presentaban circulación hiperdinámica. La ET, realizada en 31 pacientes, fue de 9,2 KPa (1,6-23,8). Sólo 3 pacientes presentaban ET $> 13,6$ KPa (dintel descrito como indicativo de hipertensión portal).

Conclusiones: Los pacientes con HTPI frecuentemente presentan colaterales vena-vena y un GPVH y un valor de ET anormales pero inferiores a los dinteles descritos para la presencia de hipertensión portal clínicamente significativa en la cirrosis, a pesar de presentar una hipertensión portal clínica manifiesta.

P-120. ANÁLISIS DE CÉLULAS T CD8+KIR2D+ EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE HEPÁTICO

M.R. López-Álvarez^a, M.R. Moya-Quiles^a, I. Legaz^a, L. Gimeno^a, G. Salgado^a, J. Gil^b, J.A. Campillo^a, M.A. Díaz-Alderete^b, B. Las Heras^a, S. Soriano^a, A.M. García-Alonso^a, P. Parrilla^c, M. Muro^a, M.R. Álvarez-López^a, A. Minguela^a y M. Miras^d

^aServicio de Inmunología.

^cServicio de Cirugía.

^dServicio de Medicina Digestiva.

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia. España.

^bServicio de Inmunología. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Introducción: Los receptores KIR (Killer Immunoglobuline-like Receptors) son proteínas de membrana expresadas en células NK y linfocitos T, principalmente CD8+. Las moléculas de HLA-C presentan un dimorfismo en la posición 80 de la hélice α -1, que define su especificidad para actuar como ligandos de receptores KIR2D, y la interacción de ambos transmite señales al interior celular capaces de regular la función citolítica de las células que los expresan. Puesto que el locus HLA-C parece ser el único locus de HLA que influye en el desarrollo del trasplante hepático, se planteó estudiar si las variaciones en las poblaciones de linfocitos T KIR2D+ de sangre periférica de pacientes sometidos a trasplante hepático se podían asociar a la aceptación o el rechazo del injerto.

Métodos: Se monitorizaron las poblaciones de linfocitos T CD8+KIR2D+ de sangre periférica de 142 pacientes, durante un periodo de evolución de un año. Los anticuerpos monoclonales específicos de receptores KIR2D que se utilizaron fueron: CD158a/h o clon EB6, que reconoce los receptores KIR2DL1/S1; CD158b/j o clon GL183, específico para los receptores KIR2DL2/3/S2. Los pacientes fueron clasificados en función de la presencia o no de episodios de rechazo agudo. El análisis estadístico se realizó utilizando test apropiados para la comparación de medias entre grupos.

Resultados: El análisis del porcentaje de linfocitos T CD8+KIR2D+ mostró que era significativamente mayor en los pacientes del grupo NRA que en los del grupo RA ($p < 0,05$) en las primeras semanas postrasplante. Por otra parte, el número absoluto de linfocitos T CD8+KIR2DL1/S1+ se incrementaba en pacientes del grupo NRA a partir del primer mes postrasplante, y superaba significativamente a los valores basales tras los 90 días de evolución. El número absoluto de linfocitos T CD8+KIR2DL2/3/S2+, también aumentaba en el grupo NRA y las diferencias con el grupo RA alcanzaron la significación estadística al final del periodo de monitorización ($p = 0,025$).

Conclusiones: Este estudio muestra que la expansión de las poblaciones T CD8+KIR2D+, en concreto linfocitos T CD8+KIR2DL2/3/S2+, se puede asociar con una mayor capacidad para aceptar el injerto. Por tanto, estos resultados sugieren que el análisis de estas poblaciones podría ser de interés en trasplante hepático, pues parecen relacionarse con la aceptación del injerto y serían de utilidad para la adaptación de las terapias inmunosupresoras a las necesidades individuales de cada paciente.

P-121. LA FUNCIÓN COGNITIVA TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO ESTÁ DETERMINADA POR LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA PREVIA Y LA ETIOLOGÍA ENÓLICA

R. García Martínez, C. Jacas, J. Alonso, V. Vargas, M. Simón-Talero y J. Córdoba

Servicio de Medicina Interna-Hepatología. Hospital Vall d'Hebron. Universitat Autónoma de Barcelona. CIBERehd. Barcelona. España.

Introducción: La función cognitiva en pacientes cirróticos mejora tras el trasplante hepático. Sin embargo puede no normalizarse. La encefalopatía hepática previa (EH) y el abuso de alcohol (OH) pueden causar persistencia de déficit neurológicos.

Objetivos: Evaluar prospectivamente la función cognitiva después del trasplante e investigar el efecto de la EH y el OH.

Pacientes y métodos: 63 pacientes consecutivos (evaluados para trasplante entre marzo'04 y octubre'07) se sometieron a un estudio neuropsicológico antes del trasplante hepático (1-2 meses). Los pacientes con buena evolución (n = 52, 54 \pm 10 años, 41 varones) fueron reevaluados 11 meses después del trasplante. Los pacientes con OH (n = 24) permanecieron abstinentes al menos 6 meses antes del trasplante. Los que desarrollaron episodios de EH previos al trasplante (n = 24), algunos de ellos alcohólicos (n = 13), presentaban nivel de conciencia normal en el momento de la evaluación. Los valores de los test fueron transformados en valores T ajustando los resultados por edad, sexo y años de educación (T = 50 representa la media en la población normal, T = 40: 1 DE por debajo de la media, T = 30: 2 DE...) y se agruparon en índices cognitivos: memoria, atención, función ejecutiva, función motora, función visuoespacial y función cognitiva global. 24 pacientes (incluidos desde marzo'06) fueron sometidos además a un estudio de resonancia magnética postrasplante, realizándose un estudio de atrofia cerebral normalizado (ajuste a volumen intracranal estándar).

Resultados: Los pacientes presentaron alteraciones en la mayoría de los dominios cognitivos explorados en el estudio pretrasplante, más marcadas en las áreas que caracterizan a la EH mínima: memoria [37(11)], atención [39(17)] y función motora [36(14)]. Tras el trasplante se observó una mejoría en la función cognitiva global que se normaliza excepto en los pacientes con EH previa y OH (figura). Los pacientes con ambas condiciones presentaron asimismo atrofia cerebral [1607(45) vs 1463(76) ml, $p = 0,009$].

Conclusiones: La función cognitiva después del trasplante está determinada por la EH previa y el OH. Ambos factores son sinérgicos e inducen pérdida de tejido cerebral causando un daño neurológico irreversible. Un manejo óptimo de la EH antes del trasplante puede tener un impacto positivo en la función cognitiva

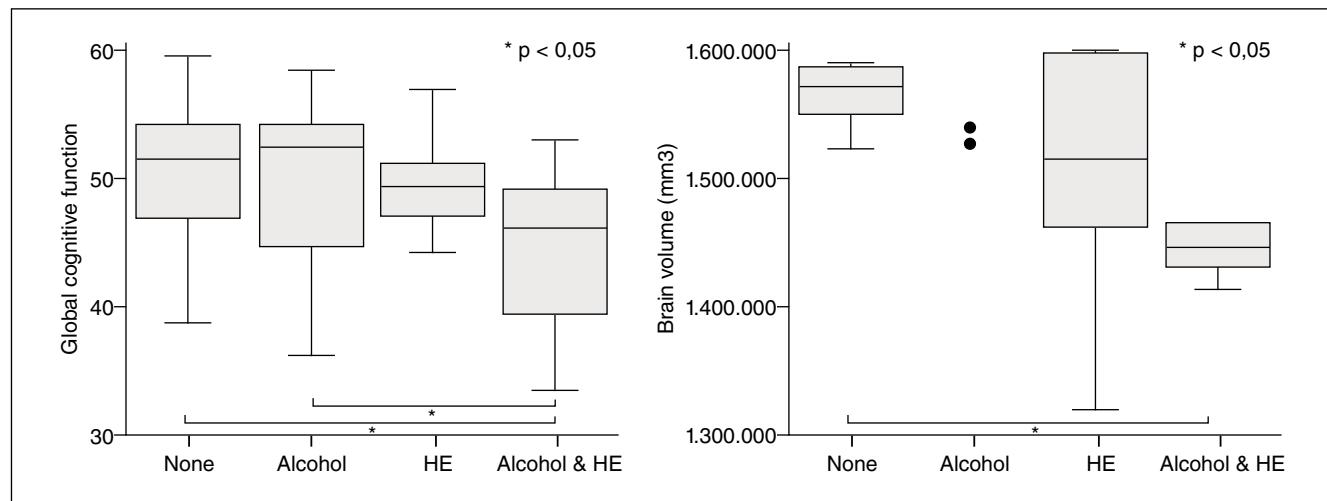


Figura 1

postrasplante. La política actual de no dar prioridad a los pacientes que desarrollan EH debería ser reconsiderada en aquellos con cirrosis OH.

P-122. EVALUACIÓN PROSPECTIVA DE LA DISFUCIÓN DIASTÓLICA DEL PACIENTE CIRRÓTICO ANTES Y DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

V. Bernal, I. Pascual, C. Fernández, P. Esquivias, A. García-Gil, I. Lacambra, J.M. Mateo y M.A. Simón

HCU Lozano Blesa. Zaragoza. España.

Introducción: La disfunción diastólica (DD) se ha descrito en la cirrosis hepática (CH) pero rara vez ha sido valorada mediante Doppler Tisular (DTI) como recomiendan las guías. Por otro lado, la evolución después del trasplante hepático (TH) de esta entidad se desconoce.

Objetivos: (1) Definir la DD mediante cateterismo cardíaco, ecocardiograma convencional, DTI y péptido natriurético cerebral. (2) Comparar su evolución post-TH.

Material y métodos: Estudio prospectivo de 43 cirróticos evaluados antes del TH y 6 meses después. Evaluación de datos clínicos, analíticos, factores de riesgo y eventos cardiovasculares y éxitus. Mediante ecocardiograma se obtuvieron datos de ambos ventrículos.

Resultados: 43 pacientes (55 ± 10 años; 30 hombres/13 mujeres. Child A4/B15/C24. MELD score: 15,29 ± 5,09 (7-29). Etiología: OH 21/VHC 12/otras 10. (1) Antes del TH, ningún paciente presentaba disfunción sistólica (FEVI < 45%). 27(68%) tenían una presión capilar pulmonar (PCP) > 12 mmHg, siendo diagnosticados de DD. 17/27 presentaban un índice cardíaco > 4 L/min/m² (DD de alto gasto). Estos pacientes presentaban mayor índice MELD y Child, independientemente de su PCP. Según el ecocardiograma convencional, 14 (33%) pacientes presentaban un ratio E/A < 1; 9 (21%) un tiempo de deceleración prolongado (> 280 ms) y 7 un índice de masa ventricular izda (IMVI) > 122 (mujeres) o 149 (hombres) g/m². Según el DTI, ningún paciente presentaba una ratio E/E' > 15 (diagnóstico de DD) y sólo un 16% presentaba valores superiores a 8 (sugestivo de DD). De los pacientes con E/E' < 8, un 71% presentaba PCP elevada. Ninguna de las medidas ecocardiográficas presentaba un área bajo la curva significativa para el diagnóstico de DD. (2) Despues del trasplante, se observó una disminución significativa del IC (3,23 ± 1,16 vs 2,32 ± 0,61; p < 0,001) y de la presión pulmonar sistólica (29,8 ± 9,6 vs 25 ± 5,9; p = 0,009). El IMVI también disminuyó signifi-

cativamente (112,7 ± 40,9 vs 99,3 ± 28; p = 0,02). Se observó un empeoramiento significativo del cociente E/A pero no del E/E' (1,079 ± 0,331 vs 0,836 ± 0,299; p = 0,002 y 5,88 ± 1,98 vs 6,57 ± 2,43; p = 0,132, respectivamente). El índice de performance miocárdica aumentó (0,258 ± 0,085 vs 0,331 ± 0,148; p = 0,019) y el índice TAPSE disminuyó significativamente (32,5 ± 6,9 vs 27,1 ± 6,8; p = 0,002).

Conclusiones: en el paciente cirrótico el estudio de la DD mediante ecocardiograma puede resultar insuficiente. A los 6 meses del trasplante, se observa un empeoramiento global de la performance miocárdica; sin embargo, la valoración individualizada de la función diastólica y sistólica de ventrículo izquierdo no mostró cambios.

P-123. EN LA ERA TARGA (2001-2009), LA COINFECCIÓN VIH EN PACIENTES CON CIRROSIS VIRAL ES FACTOR INDEPENDIENTE DE MORTALIDAD EN LISTA DE ESPERA, PERO NO TRAS TRASPLANTE HEPÁTICO

R. Barcena, A. Moreno, S. del Campo, G. de la Poza, G. Arranz, A. Muriel, C. Quereda, J. Fortún, A. Martínez, M. Arevalillo, J. Nuño, J. Graus, C. Arocena, C. Blesa, M.J. Pérez-Elías, J.L. Casado, M.I. Mateos y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

Introducción: Está muy discutido el papel de la coinfección por VIH en la evolución de los pacientes con cirrosis viral, tanto en lista de trasplante hepático (LTH) como especialmente después del mismo.

Métodos: Evaluar el impacto de la coinfección por VIH en la evolución de todos los pacientes con cirrosis viral incluidos en LTH (N = 309) entre enero-2001-septiembre 2009, e identificar los factores independientes de mortalidad tanto en LTH como tras TH.

Resultados: 252 VHC (81%), 39 VHB (13%), 18 VHB/VHC (6%). Todos los pacientes VIH (n = 44, 14%) eran VHC (n = 36, 82%) o VHC/VHB (n = 8, 18%), ninguno HBsAg+ aislado; 75% en TARGA, 66% con CD4 > 200, 75% con RNA-VIH < 200 copias/ml. Los porcentajes de TH, muerte o salida de LTH según la coinfección VIH: 36 vs 58%, 45 vs 21%, y 7 vs 15% (p = 0,001). A pesar de similar tiempo de demora entre la 1^a consulta para valoración TH y la inclusión efectiva en LTH (101 vs 95 días, p = 0,6), y de MELD similares a la inclusión en LTH (18 excluyendo CHC, p = 0,28), la probabilidad de supervivencia en LTH a los 90, 180 y 365 días fue significativamente menor en pacientes VIH: 67% vs 86%, 52% vs 74%, y 41% vs 63% (p = 0,001).

Tras regresión multivariante de Cox, fueron factores independientes de mortalidad en LTH: coinfección VIH (HR 2,543; IC95% 1,427-4,529, $p = 0,002$), antecedentes de PBE (HR 2,145; IC95% 1,336-3,444, $p = 0,002$), y una mayor edad (HR 1,025; IC95% 1,000-1,051, $p = 0,048$) o más alto MELD (HR 1,133; IC95% 1,100-1,168, $p = 0,0001$) a la inclusión en LTH. Por el contrario, tras TH, y después de una mediana de seguimiento de 91 semanas (0-431), la coinfección VIH no condicionó una peor supervivencia a 1, 3 y 5 años: 100% vs 86%; 82% vs 72%; 54% vs 65% ($p = 0,65$). Los pacientes VIH tuvieron una tasa menor de rechazo (12,5% vs 33,5%, $p = 0,085$), y una mayor incidencia de infección por CMV (44% vs 23%, $p = 0,12$). Aunque el uso de peg-IFN/RBV fue similar (44% vs 41%, $p = 0,81$), la mortalidad atribuible a recidiva VHC fue mayor en sujetos VIH (3/3 (100%) vs 12/52 (23%); $p = 0,017$).

Conclusiones: en nuestra experiencia en la era TARGA, a pesar de un buen control VIH y un manejo similar de la hepatopatía, la coinfección VIH es un factor independiente de mortalidad en LTH (52% a 24s). La supervivencia a 5a post-TH fue similar, pero todos los exitus en pacientes VIH fueron por recidiva VHC.

P-124. LA INFECCIÓN POR CMV EN EL POSTRASPLANTE HEPÁTICO DE PACIENTES CON CIRROSIS VIRAL ES FACTOR INDEPENDIENTE DE RECIDIVA SEVERA Y MORTALIDAD

R. Barcena, A. Moreno, S. del Campo, A. Muriel, J. Fortún, M.I. Mateos, M.J. Pérez-Elías, C. Quereda, J.I. Casado, J. Graus, G. de la Poza, G. Arranz, C. Arocena, C. Blesa, F. García-Hoz, J. Nuño, A. Moreno, C. Varona y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

Introducción: La infección por CMV (viremia y/o enfermedad de órgano) tras trasplante hepático (TH) conlleva mayor morbilidad en pacientes con cirrosis viral.

Métodos: Evaluar el impacto de la infección por CMV en pacientes con cirrosis viral sometidos a TH en un centro de referencia entre enero 2001-septiembre 2009 (N = 171).

Resultados: 136 VHC (80%), 23 VHB (13%), 12 VHC/HBsAg+ (7%). 16 (9%) VIH+ (11 VHC, 5 VHC/HBsAg+). Mediana de seguimiento post-TH, 91 semanas (0-431). 39 pacientes (26%), mayoritariamente VHC (92%) desarrollaron infección por CMV (82% viremia), y el 100% recibieron ganciclovir/valganciclovir. Sólo 1/39 (2,6%) era mismatch (donante+/receptor-), y desarrolló viremia tardía (día+674). En sujetos d+/r+ la mediana de tiempo a infección por CMV fue 39 días (23-425), < 90 días en 76%. La infección por CMV fue factor independiente de mortalidad post-TH (HR 2,817; IC95% 1,477-5,374, $p = 0,002$), e incrementó el riesgo de recidiva histológica severa en pacientes VHC (OR 3,05, IC95% 1,88-4,9, $p = 0,0001$), con alta mortalidad (11/18, 61%), a pesar del uso precoz de peg-IFN y RBV en el 100%. El uso de bolos de esteroides se asoció de forma independiente a infección por CMV (OR 3,930; IC95% 1,629-9,477, $p = 0,002$), siendo factores protectores la edad del donante (OR 0,974; IC95% 0,952-0,997, $p = 0,028$), la concordancia de género donante/receptor (OR 0,351; IC95% 0,148-0,835; $p = 0,018$), y ser receptor HBsAg+ (OR 0,160; IC95% 0,039-0,648, $p = 0,01$). La coinfección VIH no se asoció de forma significativa al desarrollo de enfermedad por CMV.

Conclusiones: la incidencia global de infección por CMV tras TH en pacientes con cirrosis viral fue 26%, especialmente en pacientes VHC (92%), apareciendo en los primeros 90 días en el 74%. La infección por CMV fue factor independiente de mortalidad (HR 2,817, $p = 0,002$), e incrementó el riesgo de recidiva severa VHC (OR 3,05, $p = 0,0001$). El principal factor de riesgo para infección por CMV fue el uso de bolos de esteroides (OR 3,93, $p = 0,002$), mientras que fueron factores protectores una mayor edad del donante, la concordancia de género donante/receptor, y ser receptor HBsAg+. La coinfección VIH no supuso un riesgo mayor de enfermedad por CMV post-TH.

P-125. INCIDENCIA DE AMILOIDOSIS DE NOVO EN RECEPTORES DE HÍGADOS CON POLINEUROPATHÍA AMILOIDÓTICA FAMILIAR

C. Ballellas^a, L. Lladó^a, C. Casasnovas^b, J. Fabregat^a, J. Castellote^a, X. Sanjuán^c, T. Lobatón^a, X. Vázquez-Vicente^a, J. Torras^a, X. Xiol^a y A. Rafecas^a

^aUnidad de Trasplante Hepático.

^bServicio de Neurología.

^cServicio de Anatomía Patológica.

IDIBELL. Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. España.

Introducción: Los pacientes con polineuropatía amiloidótica familiar que reciben un trasplante hepático pueden a su vez ser donantes para otro receptor; es el llamado trasplante hepático dominó (THD). Pero los receptores de un THD tienen un riesgo teórico de desarrollar amiloidosis a largo plazo, en principio a partir de los 15-20 años de recibir el injerto. Los datos sobre la incidencia real de la enfermedad son escasos.

Objetivos: Estudiar la incidencia de amiloidosis en portadores de THD.

Pacientes y métodos: Desde junio-2000 hasta noviembre-2005 hemos practicado 25 THD. Se ha realizado un estudio transversal de los pacientes vivos que incluía un interrogatorio por especialistas dirigido al sistema nervioso y aparato digestivo, un electromiograma (EMG) y una biopsia rectal. A los pacientes con alteraciones en el EMG se les practicó una biopsia neural.

Resultados: La edad media de los receptores en el momento del trasplante fue de $62,7 \pm 2,7$ años. La indicación del trasplante fue hepatocarcinoma en 10 casos, 8 cirrosis VHC, 4 cirrosis enólica, una cirrosis VHB, una cirrosis biliar primaria y un retrasplante. De los 25 pacientes, 6 habían fallecido sin evidencia de amiloidosis. De los 19 vivos, 2 rechazaron el estudio por lo que finalmente se estudiaron 16 pacientes con un seguimiento de $62,6 \pm 2,9$ meses. De los 16 pacientes, 7 no han presentado clínica y los estudios han sido normales. De los 9 pacientes con alteraciones, 7 tenían amiloide en el aparato digestivo aunque sólo dos referían diarreas ocasionales. El estudio neurológico de estos 9 pacientes era normal en 5 tanto por clínica como por EMG y en 4 casos se detectó clínica con EMG compatible con neuropatía; 3 de los 4 pacientes eran diabéticos. En la biopsia neural de todos los pacientes con alteraciones en el EMG se hallaron depósitos de amiloide.

Conclusiones: 1- El depósito de amiloide en el sistema digestivo de los receptores de un THD es frecuente pero con poca sintomatología. 2- La alteración neurológica es poco habitual pero clínicamente sintomática y de aparición más precoz de lo esperado. 3- El desarrollo de enfermedad amiloidótica con clínica importante es rara a medio plazo, por lo que es razonable seguir realizando THD.

P-126. PREVENCIÓN DEL SÍNDROME LINFOPROLIFERATIVO EN NIÑOS CON INFECCIÓN EBV EN EL PRIMER AÑO POSTRASPLANTE HEPÁTICO EN NIÑOS CON PROFILAXIS ANTIVIRAL 6 MESES

E. Frauca, G. Muñoz Bartolo, C. Camarena, L. Hierro, M.C. Díaz, A. de la Vega, M.D. Lledín, N. Leal, J.L. Encinas, F. Hernández, J. Murcia, M. Gámez, M. López Santamaría y P. Jara

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

Objetivos: Tras trasplante hepático (TH), la infección EBV lleva riesgo de síndrome linfoproliferativo (PTLD), especialmente en niños con viremia alta. El objetivo fue evaluar el resultado de las medidas aplicadas consistentes en la administración rutinaria de antiviral los primeros 6 meses posttrasplante, vigilancia de DNA-EBV, tratamiento antiviral de la infección, y reducción de tacrolimus en niños con viremia alta.

Métodos: Se analizan 25 niños consecutivos con TH en 2007 (seguimiento 8-21 meses). Antes del trasplante 16 niños eran IgGVCA(-) y 9 IgGVCA+. Como profilaxis fue administrado ganciclovir iv durante 1 mes (5 mg/kg cada 12h) seguido de valganciclovir 5 meses (520 mg/m² cada 12 h). Cada 1-3 meses hubo revisión clínica y se determinó DNA-EBV en sangre. La detección de DNA-EBV indicó la reanudación/mantenimiento de valganciclovir hasta su negativización estable. La infección EBV con viremia elevada fue tratada con: valganciclovir, y descenso de tacrolimus (< 5 ng/ml) individualizado. La cuantificación de EBV se realizó mediante PCR-tiempo real con límite detectable es < 3,5 × 10³ copias/ml. Se consideró viremia alta > 2,6 × 10⁴ copias/ml. Se describen incidencia de infección, curso de la viremia y síntomas, y tasa de PTLD.

Resultados: 1. Ocurrió infección con DNA-EBV detectable (< 3,5 × 10³ copias/ml o más) en 23/25 (92% de los niños) 2. Niños seronegativos pre-TH (Primo-infección): sucedió en 15/16 (94%), 11 de los 15 en los primeros 6 meses. La carga viral fue alta (> 2,6 × 10⁴) en el 73% de los infectados. Hubo 1 solo paciente sintomático (alergia a frío, neumonitis leve, elevación de fosfatasa alcalina > 4.000 U/L). Todos recibieron valganciclovir, y fue reducido tacrolimus en 6 de los 11 que presentaban carga elevada. No hubo PTLD. Al final del seguimiento 8 siguen con viremia alta. 3. Niños seropositivos pre-TH (Reactivación): ocurrió en 8/9 (89%), todos ellos en los primeros 6 meses. Hubo viremia elevada en 3 de los 8 (37%). Hubo síntomas dudosamente relacionados en 1 (aplasia medular). Recibieron valganciclovir, reducción de tacrolimus en 2, rituximab en 1. No hubo PTLD. Al final de seguimiento ninguno tiene carga alta. El paciente con aplasia falleció (aplasia atribuible a hepatitis noAñoC pretrasplante).

Conclusiones: En un grupo de 25 niños con profilaxis hubo infección EBV en 92%, con viremia elevada en el 61%. No hubo PTLD aplicando tratamiento con valganciclovir y (en 8 de los 14 niños con viremia alta) reducción sostenida de tacrolimus.

P-127. SÍNDROME METABÓLICO (SM) EN PACIENTES RECEPTORES DE UN TRASPLANTE HEPÁTICO: PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO

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

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

Introducción: Se ha descrito que el SM puede estar relacionado con la aparición de enfermedad cardiovascular aumentando la morbi-mortalidad de los pacientes. La diabetes (DM), hiperlipemia, hipertensión y sobrepeso son factores que contribuyen a la aparición del SM y que se desarrollan frecuentemente en los pacientes con trasplante hepático.

Objetivos: Valorar la prevalencia del SM al año y a los 3 años del trasplante hepático e intentar determinar los posibles factores de riesgo.

Pacientes y métodos: 164 pacientes transplantados entre 2002 y 2008 fueron incluidos en el estudio. Variables pre-trasplante analizadas: etiología de la cirrosis, IMC, HTA y diabetes. Variables analizadas al año y 3 años del trasplante: uso de ciclosporina/tacrolimus, dosis total de esteroides-bolos, tabaco, IMC y eventos cardiovasculares.

Resultados: El 36% (59/164) y el 37% (42/111) de los pacientes presentó SM al año y 3 años del trasplante respectivamente. De los trasplantados que desarrollaron SM al año, éste se mantenía a los 3 años en el 77%, y desaparecía en el 23%. Un 16% de los pacientes que al año del trasplante no tenía SM lo desarrollaron a los 3 años pos-trasplante. Los pacientes que desarrollaron SM tenían un IMC basal mayor que aquellos que no lo desarrollaron (28,6 ± 4,7 vs 25,6 ± 3,9; p = 0,0001). La presencia de DM pre-trasplante se asoció a un mayor riesgo de desarrollar SM (51% vs 29%, p = 0,009, respectivamente). Al año del trasplante el 64% de los pacientes con SM tenían HTA, 54% DM, 54% hiperlipemia y 64% un IMC > 28,8. Al tercer año, los trasplantados por cirrosis etílica tenían mayor riesgo de presentar SM que los trasplantados por VHC u otras etiologías (50% vs 26% vs 7%, respectivamente; p = 0,002). No encontramos diferencias significativas en la edad, uso de tacrolimus/ciclosporina, consumo de tabaco, bolos y dosis total de esteroides. Los pacientes con SM al tercer año presentaron mayor número de eventos cardiovasculares que aquellos sin SM (34% vs 18%; p = 0,04) pero sin diferencias en la supervivencia (p = 0,4).

Conclusiones: Un tercio de los pacientes transplantados desarrolla un SM al año del trasplante. Un IMC basal elevado y el antecedente de DM pre-trasplante se asocia a un mayor riesgo de desarrollar SM. Los pacientes con SM al tercer año del trasplante presentaron un mayor número de eventos cardiovasculares.