

Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



COMUNICACIONES ORALES

XXXVII Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Sesión general 1

Moderadores: Isabel Campos (Barcelona)
y José M.ª Palazón (Alicante)

EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA ANTICOAGULACIÓN EN PACIENTES CON CIRROSIS Y TROMBOSIS PORTAL

S. Seijo^a, M.G. Delgado^a, I. Yepes^b, L. Achecar^c, M.V. Catalina^b, A. García-Criado^d, J.G. Abalde^e, J. de la Peña^f, R. Bañares^b, A. Albillos^c, J. Bosch^e y J.C. García-Pagán^e

^aLaboratorio de Hemodinámica Hepática. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. España.

^bUnidad de Hepatología y Trasplante. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid. España.

^cUnidad de Gastroenterología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Universidad de Alcalá. Madrid. España.

^dCentre de Diagnòstic per la Imatge. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona. España.

^eLaboratorio de Hemodinámica Hepática. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

^fUnidad de Gastroenterología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

Introducción: La trombosis venosa portal no tumoral (TVP) es un evento frecuente en pacientes con cirrosis que puede agravar su curso y dificultar el trasplante hepático. Se ha sugerido que el tratamiento anticoagulante podría ser una alternativa terapéutica, sin embargo existen pocos datos sobre su eficacia y seguridad en estos pacientes.

Métodos: Evaluación retrospectiva de 55 pacientes con cirrosis y TVP tratados con anticoagulación (ACO) entre junio de 2003 y septiembre de 2010 en 4 centros hospitalarios de referencia. El diagnóstico de la TVP y la evaluación de la recanalización durante el seguimiento se han realizado con Ecografía-Doppler, angio-TC y/o angio-RMN.

Resultados: La indicación de la anticoagulación fue por TVP aguda/subaguda en 31 pacientes y por progresión de una TVP previamente conocida en 24. La anticoagulación se realizó con heparinas de bajo peso molecular (HBPM) en 26 pacientes, con HBPM seguido de anticoagulantes orales en 21 y sólo con anticoagulantes orales en los 8 restantes. La recanalización se consiguió en 33 pacientes (60%), completa en 25 (45%). Un inicio precoz de la ACO fue el único factor asociado con mayor probabilidad de recanalización. Cinco de 13 pacientes que suspendieron la ACO tras lograr una recanalización completa presentaron retrombosis (38,5%) tras una mediana de 1.3 meses. Los pacientes con recanalización completa desarrollaron durante el seguimiento menos complicaciones de la hipertensión portal (hemorragia digestiva, ascitis, encefalopatía hepática) que los pacientes que no la lograron, aunque esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p = 0,1$). Cinco pacientes presentaron complicaciones hemorrágicas probablemente atribuibles a la ACO. Las plaquetas $< 50 \times 10^9/L$ fue el único factor significativamente asociado a un mayor riesgo de desarrollar complicaciones hemorrágicas. Seis pacientes fallecieron como consecuencia de la enfermedad hepática pero no hubo muertes directamente relacionadas con la ACO.

Conclusiones: La ACO en pacientes con cirrosis y TVP es un tratamiento que permite conseguir una recanalización completa en el 45% de los casos, en los que parece asociarse a una mejoría en el pronóstico. La ACO debe ser mantenida indefinidamente para prevenir retrombosis.

LA SOBREPRODUCCIÓN LINFÁTICA DE ÓXIDO NÍTRICO (NO) EN RATAS CIRRÓTICAS (CH) ESTÁ ASOCIADA A ALTERACIONES ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LA VASCULATURA LINFÁTICA QUE CONTRIBUYEN A LA ACUMULACIÓN DE ASCITIS

J. Ribera^a, M. Pauta^a, P. Melgar-Lesmes^a, S. Tugues^{a,b}, G. Fernández-Varo^a, G. Soria^c, R. Tudela^{c,d}, A.M. Planas^{c,e}, V. Arroyo^f, W. Jiménez^{a,g} y M. Morales-Ruiz^a

^aServicio de Bioquímica y Genética Molecular. IDIBAPS. CIBERhd. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona. España.

^bDepartment of Immunology. Genetics and Pathology. Rudbecklaboratoriet. Uppsala. Suecia.

^cUnidad Experimental 7T-MRI. IDIBAPS. Barcelona. España.

^cCIBER-BBN. Grupo de Imagen Biomédica. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

^dDepartamento de Isquemia Cerebral y Neurodegeneración. IIBB-CSIC. IDIBAPS. Barcelona. España.

^eLiver Unit-Institut de Malalties Digestives. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBERehd. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

^fDepartamento de Ciencias Fisiológicas I. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción: En estudios previos demostramos que la cirrosis está asociada con una disminución del drenaje linfático sistémico causada por una sobreexpresión de la sintasa endotelial del NO (eNOS) en el endotelio linfático. Sin embargo, la funcionalidad y la estructura de la vasculatura linfática esplácica y su contribución a la acumulación de ascitis no han sido caracterizadas. El objetivo de este trabajo es clarificar estas cuestiones en un modelo de ratas CH con ascitis.

Métodos: La cirrosis se indujo en ratas por inhalación de CCl₄. La funcionalidad de los vasos linfáticos mesentéricos se evaluó por linfangiografía tras la ingesta de BODIPY (BODIPY FLC16, Invitrogen). Las células endoteliales linfáticas (LyECs) se aislaron usando un anticuerpo anti-podoplanina acoplado a bolas magnéticas (Miltenyi Biotec). La inhibición de la actividad de eNOS se llevó a cabo mediante el tratamiento crónico con L-NMMA (0,5 mg/Kg/día durante una semana). La reducción de ascitis y la mejora en el drenaje linfático se evaluaron por resonancia magnética de imagen e inyección del colorante Evans Blue en la cavidad peritoneal, respectivamente. El recubrimiento de los vasos linfáticos por células musculares lisas (SMC) se evaluó por inmunohistoquímica.

Resultados: Las ratas CH presentaron una disminución significativa del número de vasos linfáticos mesentéricos marcados con BODIPY, en comparación con ratas control (CT) ($0,3 \pm 0,3$ vs $4,7 \pm 1,2$ vasos fluorescentes, respectivamente; $p < 0,001$). Esta disfunción estuvo asociada a un menor recubrimiento de los vasos linfáticos por SMC en comparación con ratas CT ($2,7 \pm 1,1\%$ vs $55,2 \pm 6,9\%$ vasos linfáticos recubiertos, respectivamente; $p < 0,001$). Estudios previos han demostrado que los cambios crónicos en la producción vascular de NO están asociados a remodelado vascular (Fernández-Varo et al. Am J Pathol. 2003;162:1985-93). Por este motivo, evaluamos si una sobreproducción de NO era responsable de la disfunción linfática observada. La expresión de eNOS y la producción de NO estuvieron incrementadas significativamente en las LyECs de ratas CH. Tras el tratamiento con L-NMMA, las ratas CH mostraron una mejora significativa en la captación linfática de BODIPY, una disminución del volumen de ascitis ($6,2 \pm 1,5$ ml día 0 vs $1,9 \pm 0,1$ ml día 7 de tratamiento, $p < 0,05$) y un aumento del drenaje de líquido en la cavidad peritoneal ($1,2 \pm 0,4$ µg/ml de Evans Blue en sangre vs $2,9 \pm 0,5$ µg/ml de Evans Blue en sangre después del tratamiento, $p < 0,05$). La inhibición de eNOS también se asoció a un incremento del recubrimiento de vasos linfáticos por SMC ($2,7 \pm 1,1\%$ vasos recubiertos vs $16,0 \pm 1,2\%$ vasos recubiertos después del tratamiento, $p < 0,05$).

Conclusiones: Estos resultados indican que la sobreexpresión de eNOS en LyECs de ratas CH provoca un remodelado linfático caracterizado por la pérdida de recubrimiento de SMC. La inhibición crónica de eNOS revierte las alteraciones funcionales y estructurales de la vasculatura linfática y disminuye el volumen de ascitis.

INTERACCIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO RS12978960 DEL GEN DE LA IL28B CON LOS FACTORES BASALES PREDICTIVOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN LA HEPATITIS C

M. Maraver^a, L. Rojas^a, R. Solá^b, X. Forn^c, R. Moreno-Otero^d, R.J. Andrade^e, M. Diago^f, J. Salmerón^g, L. Rodrigo^h, J. García-Samaniegoⁱ, J.A. Pons^j, J.M. Navarro^k, J.L. Calleja^l, M. Buti^m, A. Rojas^a, M. García-Valdecasas^a, J.A. del Campo^a, C. Cano^a, M. Millán^a, R. Millán^a y M. Romero Gómez^a

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

^bHospital del Mar. Barcelona. España.

^cHospital Clínic de Barcelona. Barcelona. España.

^dHospital de la Princesa. Madrid. España.

^eHospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga. España.

^fHospital General de Valencia. España.

^gHospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

^hHospital Central de Asturias. Oviedo. España.

ⁱHospital Carlos III. Madrid. España.

^jHospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. España.

^kHospital Costa del Sol. Marbella. Málaga. España.

^lHospital Puerta de Hierro. Madrid. España.

^mHospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Objetivos: Conocer la interacción entre el polimorfismo rs12978960 del gen IL28B y los factores predictivos de respuesta en una cohorte de pacientes con hepatitis C tratados con peginterferón y ribavirina. La GGT (Sulkowski et al. AASLD 2011) y los niveles de LDL (Pol et al. AASLD 2011) han sido asociados de forma independiente con la posibilidad de curación con triple terapia.

Métodos: Incluimos 1.343 pacientes con hepatitis C tratados con peginterferón y ribavirina: genotipo 1 (n = 995), genotipo 2 (n = 49), genotipo 3 (n = 201), genotipo 4 (n = 96) y genotipo 5 (n = 2), presentaban fibrosis avanzada 370/1.049 (35,7%), carga viral media de $6,08 \pm 0,75 \log_{10}$ y glucemia: 96 ± 23 mg/dl, LDL: 99 ± 32 mg/dl y GGT: 73 ± 82 U/L. Se ha analizado el polimorfismo rs12978960 del gen IL28B mediante PCR en tiempo real acoplada a la transferencia de energía de resonancia (FRET). Análisis univariado mediante ANOVA y chi-cuadrado y multivariado mediante regresión logística.

Resultados: Presentaban genotipo CC (n = 453), CT (n = 683) y TT (n = 206) Alcanzaron respuesta viral sostenida (RVS) 714/1343 (53%). En pacientes con genotipo TT presentaron niveles descendidos de neutrófilos, LDL, AST, ALT, respecto a los pacientes con genotipo CC, al tiempo que niveles elevados de GGT y triglicéridos. No encontramos asociación con la fibrosis, glucemia, HOMA, fosfatasa alcalina, carga viral, peso ni HDL-colesterol. En el análisis de regresión logística las variables independientes asociadas con la RVS fueron la carga viral OR: 1,46 (IC95%: 1,17-1,81), $p < 0,0001$; fibrosis OR: 1,38 (IC95%: 1,19-1,61); $p < 0,0001$; IL28B OR: 2,89 (IC95%: 2,27-3,68); $p < 0,0001$ y glucemia OR: 1,006 (IC95%: 1,001-1,013), $p < 0,01$. El polimorfismo de la IL28B se asoció a RVS en genotipo 1 OR: 1,4 (IC95%: 1,3-2,28); $p < 0,0001$ y genotipo 4 OR: 3,1 (IC95%: 1,25-7,53); $p < 0,001$ junto a fibrosis y carga viral, pero no en pacientes con genotipo 2&3 donde la única variable independiente predictiva de respuesta fue la fibrosis. Encontramos una estrecha asociación entre los niveles de GGT y LDL con los polimorfismos de la IL28B en genotipo 1&4 pero no en 2&3.

Conclusiones: Los polimorfismos del gen de la IL28B influyen la posibilidad de curación en pacientes con genotipo 1&4 pero no en genotipo 2&3. Los niveles de LDL y GGT muestran una estrecha co-linealidad con los polimorfismos mientras que la fibrosis, metabolismo glucídico y carga viral se mantienen como variables independientes predictoras de respuesta junto a los polimorfismos de la IL28B en pacientes con hepatitis C genotipo 1&4.

MECANISMOS PATOGENICOS DE LA INMUNODEFICIENCIA EN LA CIRROSIS: INSUFICIENTE REPOBLACIÓN PERIFÉRICA DEL COMPARTIMENTO DE LINFOCITOS T COOPERADORES

M. Lario^{a,b}, L. Muñoz^{a,b}, M. Úbeda^{a,b}, M.J. Borrero^{a,b}, L. Chara^{b,c}, M.A. Sánchez^b, J. Monserrat^{a,b}, D. Díaz^{a,b}, M. Álvarez-Mon^{a,b,d} y A. Albillos^{a,b,e}

^aCIBERehd. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

^bDepartamento de Medicina. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

Hospital Universitario de Guadalajara. España.

Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. España. Hospital Universitario Ramón y Cajal. IRYCIS. Madrid. España.

Introducción: La depleción de linfocitos T-CD4⁺ cooperadores (Th) circulantes, especialmente Th-naïve, es un hallazgo frecuente en la cirrosis y, al estrechar el repertorio del TCR, puede contribuir a incrementar la susceptibilidad a la infección bacteriana. Apenas se han estudiado los mecanismos responsables de tal depleción, y la medida en que los mecanismos homeostáticos periféricos son capaces de compensar una menor producción y/o mayor destrucción de dichos linfocitos Th.

Objetivos: Investigar la dinámica de los linfocitos Th en la cirrosis y, específicamente, los mecanismos patogénicos que causan la disminución de los Th-naïve.

Métodos: Estudiamos por citometría de flujo los linfocitos Th-naïve y Th-memoria de sangre periférica de 60 pacientes con cirrosis y 37 controles sanos. La producción tímica, apoptosis, proliferación y activación celular se evaluaron por la expresión de CD31, anexinaV, Ki67 y HLA-DR, respectivamente. Se midió la concentración sérica de proteína transportadora de LPS (LBP) y el tamaño del bazo por ecografía como indicadores de translocación bacteriana y de secuestro esplénico, respectivamente.

Resultados: Comparado con los controles, los pacientes presentan una reducción drástica del número de linfocitos Th (801 vs 382/ μ l), que afecta sobre todo al compartimento Th-naïve y, menos, al Th-memoria. El número y el porcentaje de emigrantes tímicos recientes (Th-naïve-CD31⁺) está disminuido en pacientes (242 vs 67/ μ l, $p < 0,01$). Junto a la menor producción tímica, la muerte celular por apoptosis (Th-anexinaV⁺), espontánea e inducida por PHA, está aumentada ($p < 0,01$) en pacientes y afecta al compartimento Th-naïve y, menos, al Th-memoria. El porcentaje de linfocitos Th-memoria proliferando (Ki67⁺) aumenta en pacientes (3,3 vs 4,6%, $p < 0,01$), y dicho porcentaje se correlaciona inversamente ($r = -0,38$, $p < 0,01$) con el número de linfocitos Th-naïve. Ello indica el carácter homeostático del proceso de proliferación, que sin embargo es incapaz de restaurar a la normalidad el compartimento Th, contraindicado en la cirrosis. En la cirrosis también aumenta el porcentaje de linfocitos Th-memoria activados (HLA-DR⁺, 7,3 vs 10,6%, $p < 0,01$), que se correlaciona con el nivel sérico de LBP ($r = 0,54$, $p < 0,05$). Existen correlaciones inversas significativas ($p < 0,05$) entre el número de linfocitos Th-naïve y el porcentaje de Th-naïve en apoptosis ($r = -0,32$), el porcentaje de Th-memoria activados ($r = -0,62$), el nivel sérico de LBP ($r = -0,34$), y el tamaño del bazo ($r = -0,55$).

Conclusiones: La depleción del compartimento de linfocitos Th-naïve circulante que ocurre en la cirrosis es de origen multifactorial, y a su patogenia contribuyen el daño en la timopoyesis, el secuestro esplénico, y los aumentos en la apoptosis y en la activación. La translocación bacteriana contribuye a la depleción aumentando la activación de linfocitos Th. La expansión periférica por proliferación homeostática de los linfocitos Th-memoria es incapaz de restaurar el compartimento periférico de linfocitos Th.

INCIDENCIA DE HEPATITIS AGUDA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS E (VHE) EN UNA COMUNIDAD DEL NORTE DE ESPAÑA

M.I. González-Diéguez^a, C. Navascués^a, R. García^b, J. de La Vega^c, P. García^d, M. Rodríguez^e y M. Rodríguez^a

^aUnidad de Hepatología; ^bServicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

^bServicio de Digestivo. Hospital de Cabueñes. Gijón. Asturias. España.

^cServicio de Digestivo. Hospital San Agustín. Avilés. Asturias. España.

^dServicio de Digestivo. Hospital Valle del Nalón. Asturias. España.

Introducción: La hepatitis aguda por VHE es una enfermedad endémica en países en vías de desarrollo, fundamentalmente África y Asia, causante de una importante morbilidad. En los países desarrollados se suele desarrollar en personas que viajan a zonas endémicas. Sin embargo, en los últimos años se ha descrito un aumento del número de casos esporádicos y autóctonos en EEUU y Europa.

Objetivos: Determinar la incidencia de hepatitis aguda E en nuestro medio así como la población de riesgo y las posibles fuentes de transmisión. **Pacientes y métodos:** Entre enero/10 y octubre/11, se recogieron prospectivamente todos los casos de hepatitis aguda, salvo las isquémicas, que fueron vistas en consulta o precisaron hospitalización, en 4 hospitales. Para el estudio se analizaron variables como la edad, sexo, nacionalidad, datos clínicos, epidemiológicos, ecográficos, serológicos y analíticos. El diagnóstico de hepatitis aguda se basó en una elevación de ALT = 10 LSN. La etiología de la hepatitis se estableció en base a criterios habituales. La hepatitis aguda E se diagnosticó cuando el IgM anti-VHE fue positivo. También se determinó el IgG anti-VHE y el RNA viral.

Resultados: 122 pacientes presentaron un episodio de hepatitis aguda (78 varones y 44 mujeres) con una edad media de $49,8 \pm 18$ años [14-90]. El 96% eran nacidos en España. El 77% de los pacientes presentaron ictericia y un 16% criterios de gravedad. Seis (5%) desarrollaron una hepatitis fulminante y 3 de ellos precisaron un trasplante hepático. De los 122 pacientes, 2 fallecieron (1,6%). La etiología más frecuente fue la tóxica (23%), seguida de VHA (18%), VHB (16,4%), autoinmune (12,3%), desconocida (9%), VHE (8,2%), VHC (5,7%) y otras (3%). La media de AST fue 1.156 ± 968 UI/ml; ALT 1.942 ± 1.427 UI/ml y bilirrubina $7,4 \pm 6,3$ mg/dl. El 90% de los pacientes con hepatitis E eran varones y tenían mayor edad que los pacientes con otra etiología viral ($64,9 \pm 14,2$ vs $43,9 \pm 15,7$; $p = 0,000$). Todos eran españoles y ninguno había viajado fuera de España en los 6 meses previos. Cinco de los 10 pacientes (50%) con hepatitis E tenían animales domésticos y/o contacto con animales de caza, frente al 10% de los pacientes con otra etiología viral ($p = 0,03$), así como un mayor consumo de fármacos (40% vs 14%) aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística ($p = 0,07$). Los pacientes con hepatitis E presentaron mayor elevación de GGT (500 ± 305 vs 297 ± 271 ; $p = 0,03$) pero sin diferencias entre ambos grupos en la cifra de transaminasas, bilirrubina ni FA. El RNA-VHE fue positivo en el 60%. Un paciente con hepatitis E grave tenía una hepatopatía crónica alcohólica y falleció por fallo hepático.

Conclusiones: La incidencia de hepatitis aguda E en nuestra comunidad es baja pero no despreciable por lo que debería determinarse en todas aquellas hepatitis agudas de probable etiología tóxica o desconocida. Los pacientes de riesgo son varones mayores que tienen contacto con animales domésticos y/o de caza como posible fuente de transmisión.

PAPEL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN FGF EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR E IMPLICACIÓN EN LA RESISTENCIA ADQUIRIDA A SORAFENIB IN VIVO

V. Tovar^a, H. Cornella^a, Y. Hoshida^b, A. Villanueva^a, M. Solà^a, S. Toffanin^c, D. Sia^a, J. Peix^a, C. Alsinet^a, A. Lachenmayer^c, S. Secanella^a, M. Schwartz^c, V. Mazzaferro^d, J. Bruix^a y J.M. Llovet^{a,c}

^aUnidad de Oncología Hepática (BCLC). Servicio de Hepatología. IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona. España.

^bCancer Program. Broad Institute. Boston. EE.UU.

^cDivision of Liver Diseases. Mount Sinai School of Medicine. New York. EE.UU.

^dIstituto Nazionale dei Tumori. Milán. Italia.

Introducción: La vía de señalización de FGF juega un papel relevante en carcinogénesis y se ha sugerido su implicación en la resistencia adaptativa a terapias antiangiogénicas. Los mecanismos

moleculares implicados son poco conocidos. **Objetivos:** 1) Identificar alteraciones moleculares de la vía de FGF en carcinoma hepatocelular (CHC), 2) Identificar mecanismos implicados en el desarrollo de resistencia adquirida y dianas terapéuticas y 3) evaluar nuevas terapias tras la aparición de resistencia adaptativa.

Métodos: Se evaluó la activación de la vía en 235 CHCs en estadio inicial, integrando la información derivada de estudios genómicos de análisis de transcriptoma y SNP array. Se generaron tumores subcutáneos en ratones nude y se trataron con sorafenib (30 mg/kg/día, n = 26) hasta el desarrollo de resistencia adquirida. Inmediatamente después los ratones se aleatorizaron a recibir brivanib (BMS, 100 mg/kg/día) o continuar con sorafenib. Se evaluó la eficacia antitumoral y la supervivencia, así como, los mecanismos moleculares mediante perfiles de expresión génica y evaluación proteica (inmunohistoquímica).

Resultados: El análisis integrativo reveló que un 20% de los CHCs presentan activación de FGFR1. Las principales alteraciones incluyen sobreexpresión de ligandos (FGF2, FGF19, FGF21, 31% CHCs) y de receptores FGFR3 (8%) y FGFR4 ($p < 0,001$) -enriquecida en la subclase Proliferación (Chiang, Cancer Res, 2008) -, amplificación génica (FGF19), pérdidas alélicas (FGFR2 y Spry2, $p < 0,05$) y metilación aberrante del promotor de FGFR2 (FDR = 0.01) La sobreexpresión de FGF2 (10% CHCs) se asoció a la activación de la vía Wnt- β -catenina ($p < 0,001$) y a la transcripción de genes diana específicos de hígado (GLUL, LGR5, TBX3, SPARCL1, $p < 0,05$). En un modelo de CHC, la exposición a sorafenib generó el desarrollo de resistencia adquirida en el 65% de los ratones tras una mediana de 42 días (volumen = 855 mm³ en tumores resistentes vs 316 mm³ en tumores respondedores, $p = 0,002$). El perfil de expresión génica de los tumores resistentes reveló la expresión de genes implicados en proliferación y supervivencia celular, identificando IGF-1R y FGFR1 como potenciales dianas terapéuticas ($> 1,5$ -fold, $p < 0,05$). El análisis GSEA mostró asociación de firmas genéticas de tumores mal pronóstico y de resistencia a terapias antitumorales (FDR $< 0,05$). Brivanib, inhibidor de la actividad FGF, disminuyó el crecimiento tumoral, aumentó la supervivencia en tumores resistentes [mediana: 32 días grupo brivanib vs 14 días grupo sorafenib, $p = 0,07$], bloqueó la activación de la vía e indujo la reversión parcial de genotipo resistente ($> 1,5$ -fold, $p < 0,05$).

Conclusiones: La vía de señalización FGF está activada en un subgrupo de pacientes con CHC. FGF2 cooperaría en la activación de la vía Wnt- β -catenina en un 10% de tumores. FGFR1 y IGF-1R están implicados en la resistencia adquirida a sorafenib in vivo. En estos tumores brivanib disminuye el crecimiento tumoral e incrementa la supervivencia.

INFLUENCIA DE LA RESPUESTA INMUNE CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C SOBRE LA POSIBILIDAD DE RETIRAR LA MEDICACIÓN INMUNOSUPRESORA EN RECEPTORES DE TRASPLANTE HEPÁTICO

M.C. Londoño^{a,c}, F. Bohne^{a,c}, M. Berenguer^b, J.J. Lozano^c, M. Martínez-Llordella^{a,c}, M. Navasa^{a,c}, X. Forns^{a,c}, A. Rimola^{a,c} y A. Sánchez-Fueyo^{a,c}

^aUnidad de Trasplante Hepático. IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^bHospital La Fe. Valencia. España.

^cCIBERehd.

Introducción: En un subgrupo de pacientes trasplantados hepáticos con infección activa por el virus de la hepatitis (VHC) es posible retirar la medicación inmunosupresora de manera completa sin que se produzca rechazo del injerto (tolerancia operacional). Se desconocen sin embargo los mecanismos moleculares responsables de este fenómeno, la influencia potencial de la respuesta inmune anti-viral y su impacto sobre la progresión de la enfermedad hepática mediada por el virus.

Objetivos: Evaluar la influencia de la respuesta inmune contra el VHC sobre la posibilidad de retirar el tratamiento inmunosupresor.

Métodos: Veinticinco receptores de trasplante hepático con RNA-VHC positivo 3-15 años después del trasplante hepático fueron incluidos en un protocolo de retirada de la medicación inmunosupresora. Tras la retirada completa de la inmunosupresión (a lo largo de 5-19 meses), los pacientes fueron seguidos durante 12 meses adicionales. Aquellos que no rechazaron durante este periodo de tiempo fueron considerados tolerantes. Se obtuvieron muestras de sangre y de tejido hepático al inicio del estudio, 12 meses después de la retirada de la medicación (pacientes tolerantes), y en el momento del rechazo (pacientes no-tolerantes). Las muestras de tejido hepático se utilizaron para realizar análisis histopatológicos y transcripcionales (microarrays Affymetrix y PCR en tiempo real), mientras que a partir de los linfocitos circulantes se realizaron estudios de inmunofenotipaje, análisis transcripcional y cuantificación de la respuesta celular anti-VHC y anti-EBV por ELISpot-IFN γ .

Resultados: La retirada de la medicación fue exitosa en 14 pacientes y fracasó en 11 pacientes que rechazaron durante la realización del estudio. Todos los episodios de rechazo se resolvieron con tratamiento. A excepción de un caso, la retirada exitosa de la medicación inmunosupresora no se asoció con un incremento de la respuesta celular contra el VHC ni con una disminución ($> 1 \log_{10}$) de la carga viral. Tampoco se observaron diferencias entre los pacientes tolerantes y no tolerantes en el perfil de expresión génica en sangre periférica. El análisis molecular de las biopsias hepáticas obtenidas al inicio del estudio puso de manifiesto sin embargo una marcada sobre-expresión de genes relacionados con interferón tipo I en los pacientes tolerantes.

Conclusiones: Nuestro estudio muestra que en pacientes VHC positivos la retirada de la medicación inmunosupresora tras el trasplante hepático no aumenta la respuesta inmune contra el VHC. La expresión de genes inducidos por interferón tipo I (identificada previamente como marcador predictivo de respuesta al tratamiento anti-viral) podría regular así mismo la magnitud de la respuesta alo-inmune y favorecer la retirada de la medicación inmunosupresora tras el trasplante hepático.



Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



COMUNICACIONES ORALES

XXXVII Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Sesión general 2

Moderadores: Fernando Pons (Madrid) y Jordi Muntané (Córdoba)

TOXICOLOGY AND LIVER TRANSDUCTION EFFICACY EVALUATION OF A RECOMBINANT ADENO-ASSOCIATED VIRAL VECTOR IN NON HUMAN PRIMATES AS A POTENTIAL TREATMENT FOR ACUTE INTERMITTENT PORPHYRIA

A. Pañeda^a, E. López-Franco^a, A. Fontanellas^a, C. Unzu^a, C. Olagüe^a, R. Ferrero^a, A. Sampedro^a, I. Mauleón^a, S. Hermening^b, S. Beattie^b, H. Petry^b, A. Benito^c, D. Davola^{d,e}, J. Prieto^{a,d,e} y G. González-Aseguinolaza^a

^aCentro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Área de Hepatología y Terapia Génica. Pamplona. España.

^bAmsterdam Molecular Therapeutics. Holanda.

^cRadiología; ^dUnidad de Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^eCIBERehd. Pamplona. España.

Acute intermittent porphyria (AIP) results from half-normal activity of hepatic porphobilinogen deaminase (PBGD) and is characterised clinically by life-threatening acute neurovisceral attacks. Severe and recurrent attacks can be cured only by allogenic liver transplantation. Gene therapy to the liver by means of recombinant adeno-associated vectors may be an alternative to transplant in these patients. In the AIP mouse model a rAAV5 vector encoding a codon optimised human PBGD sequence (rAAV5-cohPBGD) with a liver specific promoter, provided long term enzyme correction and was able to prevent an acute attack, when challenged by phenobarbital. The aim of this study was to determine the potential toxic effects and the transduction efficiency of this AIP therapeutic vector in non human primates (NHPs) since this animal model could more accurately reflect the toxicity and transduction efficacy of AAV vector in humans. Female and male *Macaca fascicularis* were injected intravenously with either 1×10^{13} or 5×10^{13} viral genomes (vg)/kg rAAV5-cohPBGD. These NHPs were sacrificed one month after viral administration, to determine liver transduction efficacy and viral biodistribution. Clinical assessments: The animals were observed on a daily basis with attention to signs of change in behavior/activity, food consumption, faecal/urinary output, general

habits, and skin/hair changes. Weights were obtained weekly and at termination. Clinical pathology: Peripheral venous blood was collected for hematology, coagulation analysis and serum chemistry. Hematology parameters included red blood cell count and morphology, hemoglobin, hematocrit, and white blood cell and platelet counts. Serum chemistries included blood urea nitrogen, creatinine, ALT, AST, AP, CPK, bilirubin, total protein, albumin, globulin, calcium, sodium, potassium, chloride, glucose, total iron, cholesterol, and triglycerides. Shortly after viral injection we detect a moderate and transient elevation of CPK and AST that was more likely due to animal manipulation. No evidence of toxicity or side effects for both doses were measured at later time-points. Liver transduction efficacy: Animals were sacrificed 1 month after rAAV2/5-cohPBGD viral injection, and 8 liver regions were analysed by qPCR to determine the level of expression of the recombinant PBGD. Importantly, in monkeys receiving 5×10^{13} vg/kg there was a significant increase of the PBGD activity and mRNA copy numbers (50% higher than endogenous PBGD). Since AIP patients express 50% of the normal PBGD, it can be expected that upon clinical administration of 5×10^{13} vg/kg that therapeutic levels of PBGD will be expressed from the transduced liver. These data indicate that the gene therapy with the selected rAAV5-cohPBGD could be a good candidate as a novel treatment for the AIP disease without any adverse events that may compromise the patient quality of life.

INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA LA ASIGNACIÓN DONANTE-RECEPTOR EN TRASPLANTE HEPÁTICO

J. Briceño^a, M. Cruz-Ramírez^b, M. Prieto^c, M. Navasa^d, J. Ortiz de Urbina^e, R. Ortí^a, M.A. Gómez^f, A. Otero^g, E. Varo^h, S. Tomé^h, G. Clementeⁱ, R. Bañares^j, R. Bárcena^j, V. Cuervas-Mons^k, G. Solórzano^l, C. Vinaixa^c, A. Rubín^c, J. Colmenero^m, A. Valdivieso^e, C. Hervás^b y M. de la Mataⁿ

^aCirugía. CIBERehd. Hospital Reina Sofía. Córdoba. España.

^bUnidad de Análisis Computacional. Universidad de Córdoba. España.

^cHospital La Fe. Valencia. España.

^dUnidad de Hígado. IDIBAPS-CEK. CIBERehd. Hospital Clínic. Barcelona. España.

^eHospital de Cruces. Vizcaya. España.

^fHospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

^gComplejo Hospitalario Universitario A Coruña. España.

^bHospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. A Coruña. España.

^cHospital Gregorio Marañón. Madrid. España.

^dHospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

^eHospital Puerta de Hierro. Madrid. España.

^fHospital Infanta Cristina. Madrid. España.

^gDepartamento de Hepatología. Hospital Clínic. Barcelona. España.

^hHepatología. CIBERehd. Hospital Reina Sofía. Córdoba. España.

El emparejamiento donante-receptor (*matching*) constituye un escenario difícil en ausencia de modelos objetivos capaces de desarrollarlo. El riesgo de subjetividad y la probabilidad de cometer errores conllevan una utilización inadecuada de injertos, dada la escasez de donantes y la mortalidad en lista de espera. La inteligencia artificial puede ser de ayuda en este proceso de decisión en trasplante hepático, a pesar de su complejidad inherente. El objetivo de este estudio es mostrar la utilidad preliminar de las Redes Neuronales Artificiales (RNAs) en el emparejamiento donante-receptor (D-R) en trasplante hepático. Se confeccionó una base de datos con los trasplantes realizados durante 2007-2008 en 11 unidades de trasplante de España. Por cada par D-R se incluyeron 19 características del receptor, 20 factores del donante y 3 factores operatorios. Para el análisis, se utilizaron las variables conocidas en el momento de la oferta del donante. El end-point del estudio fue la supervivencia del injerto a 3 meses postrasplante. El período de seguimiento fue completado por 1.003 pares D-R. Para cada par, se calcularon dos probabilidades utilizando 2 modelos RNAs diferentes y no complementarios: NN-AC (*accuracy*), que predice (clasifica) la probabilidad de supervivencia del injerto a los 3 meses; y NN-MS (*minimum sensitivity*), que proporciona la probabilidad de perder el injerto a los 3 meses postrasplante. Los parámetros de cada par D-R fueron incluidos para entrenamiento computacional (75% de la base) y el 25% restante para generalización (comprobación de la idoneidad del modelo). Los dos modelos, NN-AC y NN-MS, fueron comparados con dos modelos de regresión logística y tres métodos computacionales de aprendizaje mediante Correct Classification Rate, Minimum Sensitivity y área bajo la curva ROC. Se utilizó la herramienta computacional WEKA para desarrollar estos algoritmos. La metodología NN-AC obtuvo el porcentaje más elevado de clasificación correcta de supervivencia del injerto de 88,49%, pero baja capacidad de predicción de pérdida del injerto (24%). El modelo NN-MS obtuvo la mejor capacidad para predecir la pérdida del injerto de 62,06%. Combinando NN-AC y NN-MS se desarrolló un sistema basado en 5 reglas y dos condiciones previas, atendiendo al MELD del receptor. Este sistema permite a los especialistas realizar un emparejamiento D-R objetivo con un valor adicional: el sistema basado en reglas no compete con el sistema MELD, pero es capaz de discriminar en la asignación entre candidatos con MELD muy próximos (empates), así como en aquellas excepciones al MELD. En conclusión, esta metodología permitiría a los especialistas realizar una mejor decisión, sin afectar los principios de justicia, eficiencia y equidad. Un sistema basado en 2 redes neuronales no complementarias y un sistema de reglas derivado de ellas puede facilitar la decisión en la asignación basada en MELD.

PAPEL CRÍTICO DE LA ESFINGOMIELINASA ÁCIDA EN EL HÍGADO GRASO, ESTRÉS EN EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO Y DAÑO HEPATOCELULAR INDUCIDO POR EL CONSUMO CRÓNICO DE ALCOHOL

A. Fernández^a, N. Matías^a, R. Fucho^a, N. Nuño^a, M. Elena^b, R. Bataller^c, J. Caballería^c, C. García-Ruiz^a y J.C. Fernández-Checa^a

^aInstituto de Investigaciones Biomédicas. CSIC-IDIBAPS. CIBERehd. Barcelona. España.

^bServicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^cLiver Unit. Institut de Malalties Digestives. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBERehd. Universidad de Barcelona. España.

Introducción: Los mecanismos de la hepatopatía alcohólica no son del todo conocidos, lo que limita el tratamiento terapéutico actual. Algunos de los procesos moleculares envueltos en su patogénesis incluyen alteraciones en el metabolismo intermediario, favoreciendo la lipogénesis, estrés en el retículo endoplásmico (estrés ER), desequilibrio en la secreción de adipocitoquinas y sensibilización al TNF. La esfingomielinasa ácida (ASMasa) constituye una ruta de generación de ceramida y actúa como un intermediario de la acción citotóxica del TNF. Sin embargo, su papel en la esteatosis, estrés ER y daño hepático en respuesta al consumo crónico de alcohol es desconocido, por lo que el objetivo del estudio es investigar la contribución de la ASMasa en esteatosis, daño hepático y susceptibilidad a LPS y concanavalina A (conA) tras el consumo crónico de alcohol.

Métodos: Ratones wt y ASMasa^{-/-} fueron alimentados con dieta líquida con o sin alcohol (36% calorías) durante 4 semanas. La expresión de ATF4, PDI, Grp78, CHOP y enzimas lipogénicas SREBP-1, SREBP-2, DGAT2 y FAS así como la proteína StAR, implicada en el transporte del colesterol mitocondrial, fueron examinadas por qPCR. El daño y susceptibilidad hepática frente a LPS y conA se determinó analizando los niveles de transaminasas en suero y tinciones H&E en biopsias de tejido hepático. El tráfico de colesterol hacia la mitocondria se evaluó mediante microscopia confocal.

Resultados: La deficiencia de ASMase ocasiona un incremento en el nivel de esfingomielina hepática, acompañada de una acumulación de colesterol. Sin embargo, la deficiencia en ASMasa previene el incremento de triglicéridos, ácidos grasos libres y macroesteatosis hepática inducidos por el alcohol. Dicho efecto se acompaña por una menor expresión de SREBP-1c, SREBP-2, DGAT2 y FAS, así como de la expresión del transportador mitocondrial de colesterol StAR. Esta respuesta se asocia con una menor tasa de expresión de genes de estrés en el ER como ATF4, PDI, Grp78 y CHOP. Comparados con los ratones wt, los ratones ASMasa^{-/-} son resistentes al daño hepático inducido por LPS y conA. Además los ratones ASMasa^{-/-} muestran la misma capacidad de regeneración hepática que los ratones salvajes tras hepatectomía parcial. Pacientes con hepatitis alcohólica aguda muestran un incremento en la expresión de ARNm de ASMasa (3-4 veces) respecto a sujetos controles. Asimismo, la inhibición farmacológica (amitriptilina) de ASMasa previene las características alteraciones hepáticas inducidas por el consumo de alcohol.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que la ASMasa juega un papel crítico en la formación del hígado graso y sensibilización al TNF circulante (LPS) o unido a células T (conA) provocado por el consumo crónico de alcohol, emergiendo como una nueva diana terapéutica en el tratamiento de la hepatopatía alcohólica.

MONOTERAPIA CON ÁCIDO OBETICÓLICO, UN AGONISTA SINTÉTICO DEL RECEPTOR FARNESOIDE X EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA. RESULTADOS DE UN ENSAYO ALEATORIZADO, MULTICÉNTRICO INTERNACIONAL

A. Parés^a, K.V. Kowdley^b, V.A. Luketic^b, R.W. Chapman^b, D.E. Jones^b, A. Burroughs^b, G.M. Hirschfield^b, R. Poupon^b, C. Schramm^b, C. Vincent^b, C. Rust^b, A.L. Mason^b, E.N. Castlloe^c, C.I. Sciacca^c, O. Boehm^b, M. Pruzanski^c y D.A. Shapiro^c

^aUnidad de Hepatología. Hospital Clínic. CIBERehd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. España.

^bGrupo Internacional de Investigación.

^cIntercept Pharmaceuticals. San Diego. EE.UU.

Introducción y objetivos: El ácido obeticólico (OC), el éster 6-etílico del ácido quenodeoxicólico o INT-747, es un nuevo derivado del ácido quenodeoxicólico (CDC), el ligando natural del recep-

tor farnesoide X (FXR). El OC tiene ~100 veces más potencia agonista FXR que el CDC y en estudios preclínicos muestra propiedades coleréticas y antifibróticas. Un ensayo previo mostró la eficacia del OC combinado con ácido ursodeoxicólico (UDC) en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP) y repuesta bioquímica subóptima al UDC. El objetivo del estudio ha sido analizar el efecto de la monoterapia con OC en pacientes con CBP.

Métodos: Ensayo multicéntrico internacional, doble ciego comparado con placebo (PBO) controlado, de grupos paralelos, y análisis dosis-respuesta que ha evaluado los efectos del OC sobre los niveles de fosfatasa alcalina (FA) y otros índices de función hepática -alanino aminotransferasa (ALT), gamma-glutamyl transferasa (g-GT), así como la seguridad en pacientes con niveles persistentemente elevados de FA (> 1,5 veces el límite superior normal (N)) que no habían tomado UDC durante al menos 3 meses.

Resultados: Se aleatorizaron 59 pacientes (edad media 55 ± 1 años, 85% mujeres) que recibieron placebo, 10 mg/d o 50 mg/d de OC durante 12 semanas. Los niveles basales antes del tratamiento eran (media \pm EEM): FA: 433 ± 31 (N: 117) U/L; GGT: 527 ± 48 (N: 50) U/L; ALT: 81 ± 6 (N: 67) U/L; AST: 68 ± 4 (N: 50) U/L. Al finalizar el tratamiento se observó una disminución significativa de FA en el grupo de 10 mg desde $3,9 \times N$ a $1,9 \times N$, (% FA: -44 ± 5 ; FA (u/l): -233 ± 47 , $p < 0,0001$) efecto que también se observó en el grupo de 50 mg (% FA: -38 ± 5 ; FA (u/l): -161 ± 32 , $p < 0,0001$), pero no en el grupo PBO (% FA: $0,4 \pm 3,2$; FA (u/l): 12 ± 13 , p : ns). El tratamiento con OC se asoció también con un descenso significativo de la g-GT (PBO: -3 ± 5 ; OC 10 mg: -73 ± 4 ; OC 50 mg: -65 ± 6 , $p < 0,0001$) y de la ALT (PBO: -4 ± 9 ; OC 10 mg: -37 ± 8 ; OC 50 mg: -35 ± 7 , $p < 0,01$), así como de la bilirrubina. El prurito fue un efecto adverso muy común y relacionado con la dosis de OC. Se observó en el 30% del grupo PBO, 70% en el grupo de 10 mg/d y 94% en el grupo de 50 mg/d. Los otros efectos adversos poco relevantes se observaron con una incidencia similar en todos los grupos. Hubo un efecto adverso grave en un paciente con placebo.

Conclusiones: El ácido obeticolico es el primer fármaco racionalmente desarrollado para el tratamiento de las enfermedades colestáticas que muestra una eficacia considerable como monoterapia para la cirrosis biliar primaria, al mejorar los indicadores de daño hepático. Basándose en estos datos, se requieren ensayos que comparen la eficacia de este fármaco con el ácido ursodeoxicólico.

ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE SEGURIDAD Y EFICACIA DE LA IMPLANTACIÓN DE UNA DERIVACIÓN PERITONEO-VESICAL CONTROLADA POR UNA BOMBA DE BAJO FLUJO (ALFA PUMP SYSTEM™) EN EL TRATAMIENTO DE LA ASCITIS REFRACTARIA

C. Guarner^{a,b}, P. Bellot^{a,c}, M.W. Welker^d, G. Soriano^{a,b}, M. von Schaewen^e, B. Appenrodt^f, W. Reiner^g, R. Tzonev^h, S. Handshievⁱ, C. Verslype^j, S. Zeuzem^d, C. Moench^d, E. Schott^e, T. Sauerbruch^f, A. Petrov^h, K. Katzarovⁱ, F. Nevens^j y J. Such^{a,c}

^aCIBERehd.

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

^cUnidad Hepática. Hospital General Universitario de Alicante. España.

^dJohann Wolfgang Goethe-Universität. Frankfurt. Alemania.

^eCharité Hospital. Berlín. Alemania.

^fUniversitätsklinik Bonn. Alemania.

^gUniversitätsklinikum Regensburg. Alemania.

^hHospital Tokuda. Sofía. Bulgaria.

ⁱMilitary Medical Academy. Sofía. Bulgaria.

^jUZ Leuven. Bélgica.

Introducción: El tratamiento actual de la ascitis refractaria (AR) consiste en la realización de paracentesis evacuadoras (PE), la res-

tricción dietética de sodio y la colocación de un TIPS en pacientes seleccionados. Sin embargo, la realización frecuente de PE implica repetidos ingresos en hospital de día y el uso de albúmina, medidas que se asocian a un mayor coste económico. Además, las sucesivas PEs y las restricciones dietéticas suelen asociarse a un empeoramiento de la calidad de vida en estos pacientes. El sistema ALFA (Automated-Low-Flow-Ascites) pump™ consiste en la implantación subcutánea de un dispositivo que bombea la ascitis a través de un catéter peritoneal y otro vesical hacia la vejiga urinaria, donde es eliminada por la micción espontánea. Este nuevo tratamiento de la ascitis podría evitar la realización de PEs, liberalizar la restricción sódica por lo que podría ser una medida coste-efectiva y de incremento de calidad de vida.

Objetivos: Evaluar la eficacia y seguridad de ALFA pump system™ en el tratamiento de la AR en un estudio multicéntrico europeo no aleatorizado.

Métodos: De febrero/2010 a julio/2011 40 pacientes con AR fueron incluidos y evaluados durante tres meses en 9 hospitales europeos.

Resultados: El sistema ALFA pump™ eliminó el 91% de la ascitis producida por los pacientes y redujo de forma significativa el número de PE por mes necesarias para controlar la AR en comparación con la frecuencia basal [2,1 (0,4-6,7) vs 0,3 (0-7,5); $p < 0,001$]. La mitad de los pacientes no requirieron ninguna PE para controlar la ascitis después de la implantación del sistema ALFA pump™. Durante la evolución 19 (47%) pacientes presentaron complicaciones relacionadas con el dispositivo y/o el procedimiento de su implantación: migración y/o obstrucción catéter vesical ($n = 9$), migración y/o obstrucción catéter peritoneal ($n = 3$), fallo de la bomba ($n = 1$), dehiscencia de sutura ($n = 2$), perforación iatrogénica del vejiga ($n = 1$) y fuga de líquido ascítico a través de las heridas quirúrgicas ($n = 2$). Todas estas complicaciones se resolvieron tras tratamiento quirúrgico, excepto en 4 pacientes en los que se explantó el dispositivo, una por indicación médica y 3 por decisión del paciente. Durante el estudio se rediseñó el sistema de implantación del catéter vesical con una reducción drástica de las complicaciones relacionadas con el dispositivo. Los eventos adversos relacionados con la cirrosis objetivados durante el estudio fueron: peritonitis bacteriana espontánea (PBE) ($n = 6$), encefalopatía hepática ($n = 10$), insuficiencia renal (IR) ($n = 9$), infección urinaria ($n = 4$) y hemorragia por varices ($n = 4$). Cuatro pacientes han fallecido durante el estudio, como consecuencia de sepsis ($n = 2$) y fracaso renal ($n = 2$) relacionados con un deterioro progresivo de la función hepática. En 4 de los 5 episodios de PBE aparecieron en pacientes que no estaban recibiendo norfloxacin como profilaxis primaria de infecciones y 4 de los 9 episodios de IR fueron debidos a la administración de AINEs en el postoperatorio inmediato.

Conclusiones: El sistema ALFA pump™ es un procedimiento eficaz para el tratamiento de la AR en pacientes con cirrosis hepática avanzada. La mayoría de las complicaciones objetivadas son secundarias a la gravedad de la enfermedad hepática que presentan los pacientes con AR. Sin embargo, se necesita un ensayo clínico aleatorizado que compare el sistema ALFA pump™ con las PEs para confirmar la seguridad y eficacia de este dispositivo en el tratamiento de la AR.

TRATAMIENTO COMBINADO CON FÁRMACOS Y LIGADURA FRENTE A TRATAMIENTO GUIADO POR HEMODINÁMICA PARA LA PREVENCIÓN DE LA RECIDIVA HEMORRÁGICA VARICOSA

I. Graupera^{a,b}, C. Aracil^c, A. Colomo^{a,b}, A. Puente^b, V. Hernández-Gea^b, M. Poca^b, J. Miñana^c, X. Torras^{a,b}, C. Guarner^{a,b} y C. Villanueva^{a,b}

^aCIBERehd.

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

‘Servicio de Patología Digestiva. Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. España.

Introducción: El tratamiento combinado con β -bloqueantes (BB) \pm 5-mononitrato de isosorbide (MNIS) y ligadura endoscópica de varices (LEV) es actualmente de elección para prevenir la recidiva hemorrágica varicosa. La evaluación hemodinámica nos aporta información relevante para la estratificación del riesgo de recidiva hemorrágica y puede ser útil para guiar el tratamiento. El tratamiento con BB + prazosina consigue respuesta hemodinámica en una alta proporción de pacientes previamente no-respondedores a BB + MNIS. El objetivo de este estudio es evaluar si el tratamiento guiado por respuesta hemodinámica, utilizando BB + prazosina en no-respondedores a BB+MNIS, mejora la eficacia del tratamiento actual de primera línea para prevenir la recidiva hemorrágica por varices.

Métodos: tras el control de la hemorragia varicosa aguda, 170 pacientes cirróticos fueron aleatorizados a un grupo control tratado con nadolol + MNIS + LEV (n = 86) y otro grupo con el tratamiento guiado según respuesta hemodinámica (n = 84). Se realizó un estudio hemodinámico basal con test agudo de propranolol en ambos grupos. En el grupo guiado, los respondedores al test agudo fueron tratados con nadolol y los no-respondedores con BB+MNIS+LEV. En ambos grupos, se repitió el estudio hemodinámico al mes y en el grupo guiado los no-respondedores a BB + MNIS recibieron BB + prazosina. Se definió respuesta hemodinámica como un descenso de presión portal > 20% o a < 12 mmHg. En el grupo guiado, se dejó de realizar LEV tras conseguir respuesta.

Resultados: Las características basales de los dos grupos fueron similares. La cirrosis fue de etiología alcohólica en un 46% y un 28% eran Pugh C. El seguimiento medio fue de 29 meses. En el grupo guiado por hemodinámica, se requirieron menos sesiones de LEV y 19% de pacientes recibieron solo nadolol. La probabilidad de permanecer sin recidiva hemorrágica fue significativamente mayor en el grupo guiado que en el control (87% vs 71% a 2 años, p = 0,03). Un 9% vs 15% de pacientes, respectivamente, requirieron un TIPS por fracaso del tratamiento. No hubo diferencias en la incidencia de complicaciones (40% vs 39%). La probabilidad de supervivencia fue significativamente mayor en el grupo guiado que en el control (73% vs 57% a los 3 años, p = 0,04). Las tasa de respuesta hemodinámica aguda y al mes fueron similares, mientras que la tasa final de respuesta fue mayor en el grupo guiado (65% vs 46%, p = 0,03).

Conclusiones: Para prevenir la hemorragia por varices, el tratamiento guiado según respuesta hemodinámica, utilizando nadolol + MNIS en no-respondedores a BB y nadolol + prazosin en no-respondedores a nadolol + MNIS, se asocia a menor riesgo de recidiva hemorrágica y a mejor supervivencia respecto al tratamiento con nadolol + MNIS + LEV.

INFECCIÓN Y REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN LÍNEAS CELULARES DERIVADAS DE CARCINOMA HEPATOCELULAR HUMANO

M. Coto Llerena, G. Koutsoudakis, L. Boix, J.M. López-Oliva, C. Fernández, J. Bruix, X. Forns y S. Pérez del Pulgar

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

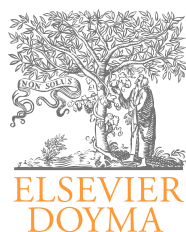
Introducción: Las investigaciones sobre la biología molecular del virus de la hepatitis C (VHC) se han visto limitadas por la falta de un modelo animal adecuado y por el hecho de que el cultivo celular del VHC está prácticamente restringido al genoma infeccioso JFH1 y a la línea celular de hepatoma humano Huh7.

Objetivos: Investigar la replicación del VHC in vitro utilizando nuevas líneas celulares derivadas de carcinoma hepatocelular (CHC) humano.

Métodos: Se han caracterizado 8 líneas celulares (BCLC-1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 y 10) derivadas de fragmentos tisulares de CHC. La expresión de los receptores del VHC fue analizada por Western Blot e inmunofluorescencia. Los ensayos de infección y neutralización se realizaron utilizando el sistema de las pseudopartículas retrovirales del VHC. El estudio de la replicación se realizó utilizando el replicón subgenómico de JFH1.

Resultados: Las líneas BCLC expresan los receptores de la entrada del VHC, CD81, SRB1 y las proteínas de las uniones estrechas (tight-junctions) claudina-1 y ocludina, en la membrana plasmática. Además, todas las líneas BCLC, excepto BCLC-9, son susceptibles a la infección por las pseudopartículas del VHC, pudiéndose bloquear la entrada mediante anticuerpos neutralizantes contra los receptores del VHC y contra la proteína E2 de la envuelta del VHC. Aunque ninguna de las líneas fue capaz de soportar la replicación del replicón subgenómico a corto plazo, las líneas BCLC-1 y BCLC-5 demostraron replicación a largo plazo después de ser electroporadas con un replicón subgenómico que contiene un gen de resistencia a la neomicina.

Conclusiones: Las líneas celulares BCLC son permisivas a la entrada de las pseudopartículas del VHC. BCLC-1 y BCLC-5 son capaces de soportar la replicación del replicón subgenómico del VHC a largo plazo y por tanto, son una herramienta útil para el estudio del ciclo de vida del VHC in vitro.



Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



COMUNICACIONES ORALES

XXXVII Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Sesión general 3

Moderadoras: Miriam Romero (Madrid) y Esther Molina (Santiago de Compostela)

LOS RATONES TRANSGÉNICOS PARA LA ÁCIDO GRASO OMEGA-3 DESATURASA CODIFICADA POR EL GEN FAT-1 ESTÁN PROTEGIDOS FRENTE A LA ESTEATOHEPATITIS

C. López-Vicario^a, E. Titos^a, A. González-Pérez^a, B. Rius^a, E. Morán-Salvador^a, V. García-Alonso^a, M. Cofán^a, J.X. Kang^b, V. Arroyo^c y J. Clària^a

^aServicio de Bioquímica y Genética Molecular. IDIBAPS. CIBERehd. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^bMassachusetts General Hospital. Harvard Medical School. Boston. Massachusetts. EE.UU.

^cUnidad de Hígado. IDIBAPS-CEK. CIBERehd. Hospital Clínic de Barcelona. España.

Introducción: La existencia de un desequilibrio favorable a un mayor aporte de ácidos grasos poliinsaturados omega-6, con marcados efectos inflamatorios, en detrimento de los omega-3, con efectos anti-inflamatorios, favorece la progresión de las enfermedades inflamatorias. La obesidad y sus complicaciones como la resistencia a la insulina y la esteatohepatitis de origen no-alcohólico (EHNA) son enfermedades prevalentes con un marcado componente inflamatorio. En este contexto, el restablecimiento del equilibrio entre los ácidos grasos omega-6 y omega-3 promovería efectos beneficiosos y protectores frente a la EHNA. En el presente estudio se ha abordado esta hipótesis mediante una nueva aproximación experimental utilizando ratones transgénicos (ratones fat-1) que expresan una ácido graso omega-3 desaturasa codificada por el gen fat-1, la cual permite la conversión de forma endógena de los ácidos grasos omega-6 en omega-3.

Objetivos: El objetivo principal del estudio fue investigar el impacto del enriquecimiento endógeno de omega-3 mediante la expresión de la ácido graso omega-3 desaturasa codificada por el gen fat-1 en un modelo experimental de EHNA. Como objetivo secundario, se investigaron los efectos de la modulación farmacológica de la delta-5 y delta-6-desaturasas in vitro en hepatocitos en cultivo.

Métodos: Ratones fat-1 (n = 10) y control (n = 7) fueron inducidos a EHNA mediante una dieta rica en grasa (DRG) durante 16 sema-

nas. Al final del estudio se evaluó en tejido hepático el contenido lipídico (oil red-O), el infiltrado inflamatorio (F4/80), la expresión génica (PCR tiempo real) y la expresión proteica (Western blot) y el perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases (CG). Los resultados se compararon a los obtenidos en un tercer grupo de ratones que recibieron una DRG suplementada con EPA y DHA (n = 9). Los estudios in vitro se realizaron en cultivos de hepatocitos primarios incubados con un inhibidor de la delta-5 y delta-6 desaturasas (CP-24879, 0,1, 1 y 10 micromolar) en presencia de EPA (10 micromolar) y LPS (10 ng/ml) o ácido oleico (200 micromolar).

Resultados: En comparación con los ratones control, que presentaron marcada esteatosis e inflamación hepática tras recibir la DRG, los ratones fat-1 presentaron unos menores niveles séricos de AST y ALT, una disminución del contenido lipídico intrahepático y de la infiltración de macrófagos, un descenso en la expresión de genes implicados en la captación de ácidos grasos (L-FABP, FAT/CD36) y la lipogénesis (FASN, SREBP-1c, ACC), y una mejoría de la resistencia a la insulina reflejada por un menor grado de fosforilación de la JNK. Estos efectos fueron comparables a los observados en el grupo de ratones que recibieron un aporte exógeno de omega-3 mediante una dieta suplementada con EPA y DHA. En ambos casos, se observó una disminución significativa de la ratio omega-6/omega-3 en el tejido hepático, acompañada por un descenso significativo de la actividad de la delta-9 desaturasa (SCD-1). La inhibición de la delta-5 y delta-6 desaturasas en hepatocitos incubados con EPA disminuyó significativamente la inflamación en respuesta a LPS y el acúmulo intracelular de lípidos en respuesta al ácido oleico.

Conclusiones: Los ratones fat-1 están protegidos frente a los efectos esteatóticos e inflamatorios de una DRG, sugiriendo que el enriquecimiento de los tejidos con ácidos grasos omega-3 constituye una estrategia válida para la prevención de la EHNA.

IMPORTANCIA DE LOS FACTORES GENÉTICOS DEL SISTEMA INMUNE INNATO (KIRS, HLA, IL28B) EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS CRÓNICA C

E.J. Pavón^a, P. Muñoz de Rueda^{a,b}, A. Gila^{a,b}, A. Selfa^a, M. Romero-Gómez^c, R. López-Rodríguez^{b,d}, R. Moreno-Otero^{b,d}, M. Diago^e, M.A. López-Nevot^f, D. Quintero^{a,b}, E. Ruiz-Escolano^a, A. Ruiz-Extremera^{a,b,g} y J. Salmerón^{a,b,h}

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

^bCIBERehd.

^cHospital Nuestra Señora de Valme. CIBERehd. Sevilla. España.

^dServicio de Gastroenterología y Hepatología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

^eHospital General de Valencia. España.

^fServicio de Inmunología. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. España.

^gDepartamento de Pediatría; ^hDepartamento de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España.

Introducción y objetivos: Existen evidencias recientes del papel que desempeña el sistema inmune innato en la respuesta al tratamiento de la hepatitis crónica C (HCC). La IL28B, los receptores de las células NK denominados KIRs (killer cell immunoglobulin-like receptors) y los HLA (human leukocyte antigen) de clase I y de clase II, condicionan la evolución de la infección por VHC. Así, se ha demostrado que el KIR2DL3/2DL3:C1C1 se asocia con el aclaramiento viral espontáneo. Nuestro objetivo fue estudiar la relación de las diferentes combinaciones de los KIR, HLA de clase I o II y el SNP rs12979860 (IL28B) con la respuesta virológica sostenida (RVS) al tratamiento combinado con IFNpeg+RBV en pacientes con HCC.

Métodos: Se han analizado las frecuencias de los genes KIR (8 inhibidores, 6 activadores y 2 pseudogenes), de los HLA tanto de clase I (A, B y C) como de clase II (DRB1, DQB1) y el SNP rs12979860 de la IL28B en 428 pacientes españoles con HCC tratados con IFN-peg y RBV, 378 (88%) tenían genotipo 1-4 y 50 (12%) genotipo 2-3: 241 pacientes (56%) presentaron una RVS y 187 (44%) no-RVS. Resultados: La presencia del rs12979860 CC (n = 142; OR = 3,8, IC95%: 2,4-6), DQB1*0301 (n = 100; OR = 2,01, IC95%: 1,2-3,2) y KIR2DS3 (n = 120; OR = 1,6, IC95%: 1,07-2,57) así como la ausencia del KIR2DS4 (n = 15; OR = 5,3, IC95%: 1,2-24) y KIR3DL1 (n = 15; OR = 5,3, IC95%: 1,2-24) se asociaban significativamente con la RVS. En el análisis multivariante, tanto el KIR2DS4 como el KIR3DL1 perdían la significación estadística. Cuando se estudió el efecto sinérgico de los distintos genes analizados, se observó que las siguientes combinaciones aumentaban la probabilidad de RVS: 1) A*0201(+)/IL28B(CC) [n = 45; S (sinergismo) = 4,75, AP (proporción atribuible a la interacción) = 68%, p < 0,0001], 2) KIR2DS3(+)/IL28B(CC) [n = 39; S = 2,58, Ap = 66%, p < 0,0001] y 3) KIR2DS3(+)/A*0201(+) [n = 43, S = 3,6, Ap = 46%, p = 0,008]. Además, todos los pacientes (100%) con las siguientes asociaciones alcanzaron la RVS: 1) genotipo rs12979860 CC + DQB1*0301 + KIR2DS3, n = 6; 2) rs12979860 CC + DQB1*0301 + KIR2DL3/2DL3: C1C1, n = 5; y 3) rs12979860 CC + A*0201 + KIR2DS3, n = 12 (p = 0,002, p < 0,0001, p = 0,01, respectivamente).

Conclusiones: Tanto la IL28B (rs12979860CC), los HLA (DQB1*0301) y los KIRs (KIR2DS3) son factores predictivos de RVS. Por otro lado, la asociación de varios de estos factores condiciona un sinergismo capaz de incrementar las probabilidades de RVS. Probablemente, el estudio de la inmunidad innata favorezca la creación de nuevas terapias individualizadas en pacientes con HCC.

LA ABLACIÓN PERCUTÁNEA PUEDE CONSTITUIR EL TRATAMIENTO DE PRIMERA ELECCIÓN EN PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC) < 2 CM (ESTADIO BCLC 0). ANÁLISIS EN UNA COHORTE DE 169 PACIENTES

C. Rodríguez de Lope^a, A. Forner^{a,b}, R. Vilana^{b,c}, L. Bianchi^{b,c}, J. Rimola^{b,c}, S. Tremosini^a, M. Reig^{a,b}, C. Ayuso^{b,c}, C. Bru^{b,c} y J. Bruix^{a,b}

^aUnidad de Oncología Hepática (BCLC). Servicio de Hepatología. IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona. España.

^bCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

^cServicio de Radiología (BCLC). IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona. España.

Introducción: Los planes de detección precoz pretenden diagnosticar el CHC cuando se halla en fase inicial: tumor único < 2 cm. En este estadio la ablación mediante radiofrecuencia o inyección de alcohol posee su máxima eficacia y es factible que la supervivencia a largo plazo no sea diferente de la obtenida mediante resección quirúrgica. Habitualmente la cirugía se reserva para pacientes sin hipertensión portal (GPVH < 10 mm) y se tratan mediante ablación los pacientes con hepatopatía más avanzada o con comorbilidades. En este estudio evaluamos la eficacia terapéutica y la supervivencia postablación en una cohorte de 169 pacientes con CHC único < 2 cm (enero 98-julio 10) que no habían sido candidatos a resección quirúrgica o trasplante.

Métodos: Se incluyeron 169 pacientes con una edad mediana de 68 años (rango 38-81), 103 (61%) eran varones, 133 VHC+, Child-Pugh A 131 (77,5%), AFP mediana 10 ng/ml (rango 1-1.154), diámetro 16 mm (rango 9-20 mm). En 120 pacientes (71%) se identificó hipertensión portal clínicamente significativa (HTPCS) (GPVH > 10 mmHg, o ascitis, o varices esofágicas, o un recuento de plaquetas < 100 × 10⁹/L con esplenomegalia). En 73 casos se efectuó radiofrecuencia y en 96 inyección de alcohol. La evaluación de la respuesta al tratamiento se hizo al mes de cada ciclo de tratamiento. En los que requirieron más de un ciclo, la evaluación de la respuesta inicial es la realizada pasado un mes tras el último ciclo.

Resultados: Se logró necrosis completa en 144 pacientes (92,3% de los pacientes evaluables). La mediana de seguimiento fue 2,6 años (rango 0,01-12,3). Durante este periodo fallecieron 73 pacientes. La supervivencia a 3, 5 y 7 años fue 70,5%, 45,5% y 38,8%, respectivamente. El análisis multivariado identificó la edad como único predictor independiente de supervivencia. El análisis de la supervivencia a 3, 5 y 7 años por subgrupos de acuerdo con el Child-Pugh (CP) y edad mediana fueron: CP A (n = 131) 75%, 46%, 39,4%; CP B (n = 36) 54%, 43,2%, 36%; < 68 años (n = 84) 80%, 53,7%, 50,1%; > 68 años (n = 85) 63,1%, 39,8%, 29,8%; CP A < 68 años (n = 63) 84,6%, 54,7%, 50,2%; CP A > 68 años (n = 68) 67,8%, 40,2%, 31,2%. Los pacientes CP A sin HTPCS (n = 27) tuvieron una supervivencia mediana de 6,2 años y una supervivencia a 5 años del 65,2%.

Conclusiones: Estos resultados confirman la alta eficacia de la ablación para CHC < 2 cm y demuestran que la supervivencia a largo plazo es superponible a la descrita en pacientes que no presentan perfil óptimo para resección quirúrgica. La supervivencia del 50% a 7 años en CP A < 68 años sugiere que la ablación podría constituir la primera opción terapéutica en pacientes con CHC estadio BCLC 0, mientras que la resección quirúrgica pasaría a ser una opción de segunda línea en caso de fracaso tras ablación.

EL VIRUS DE LA HEPATITIS C MODIFICA LA EXPRESIÓN DE MICRO-RNAS RELACIONADOS CON APOPTOSIS Y SÍNDROME METABÓLICO

L. Rojas, M. García-Valdecasas, J.A. del Campo y M. Romero-Gómez

Unidad de Gestión Médico Quirúrgica de Enfermedades Digestivas. CIBERehd. Hospital de Valme. Sevilla. España.

Introducción: Los micro RNAs (miRNA) son pequeñas moléculas de RNA que regulan la expresión génica. Estudios recientes han demostrado que estos miRNAs son abundantes en el hígado, donde regulan numerosas funciones. La desregulación de los miRNAs puede jugar un papel clave en muchas enfermedades hepáticas como la hepatitis crónica C o el hepatocarcinoma. El objetivo en este trabajo es analizar la diferencias de expresión de los miRNA más abundantes en células humanas, empleando un sistema in vitro en la línea celular Huh7.5 de hepatoblastoma humano, infectado con el replicón JFH1 del virus de la hepatitis C.

Métodos: La línea celular Huh7.5 se cultivó en medio DMEM suplementado con FBS al 10%, antibióticos, L-glutamina y aminoácidos no esenciales. Las células se incubaron a 37 °C, 5% de CO₂. Las partículas infectivas de JFH-1 se añadieron a las células en una proporción de una partícula/célula. Las células transfectadas se incubaron durante 48 horas y después se extrajo el RNA total con TriSure (Bioline, London, RU). Mediante el Kit RT2 miRNA PCR Array System (SABiosciences-Qiagen) se realizó la cuantificación de los 88 miRNAs más expresados siguiendo las instrucciones del fabricante.

Resultados: De los 88 miRNA estudiados, 8 miRNA están sobreexpresados más de 4 veces en células infectadas con VHC con respecto al control: miRNA 29a (4,1), miRNA 29b (4,7), miRNA 22 (4,4), miRNA 32 (6,8), miRNA 130a (6,5), miRNA 141 (7,5), miRNA 186 (4), miRNA 181b (4,3). Los microARNs 29a y 29b están relacionados con la resistencia a la insulina. El miRNA 130a se relaciona con el acúmulo de grasa en los hepatocitos y el desarrollo de cáncer de hígado. Los miRNAs 29a y 29b inhiben además la apoptosis. El miRNA 29a puede inducir resistencia a la insulina ya que inhibe a PTEN el cual es un inhibidor de la vía de señalización de la insulina. Por otra parte el miRNA 130a activa la adipogénesis.

Conclusiones: La infección por el virus de la hepatitis C modifica la expresión de los miRNA 29a, 29b (inducen resistencia a la insulina) y 130a (promueve esteatosis). Conocer mejor los mecanismos implicados en esta desregulación supondría el desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades hepáticas.

EL POLIMORFISMO GENÉTICO LEU412PHE DE TLR3 EN RECEPTORES HEPÁTICOS TRASPLANTADOS POR CIRROSIS POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C SE ASOCIA CON UNA MENOR INCIDENCIA DE RECHAZO AGUDO DEL INJERTO

M.J. Citores^a, I. Baños^b, S. Pérez del Pulgar^c, A. Duca^b, Z. Mariño^d, S. Rosado^a, C. de Pablo^e, M. Navasa^d y V. Cuervas-Mons^b

^aLaboratorio de Medicina Interna; ^bUnidad de Trasplante Hepático; ^cServicio de Inmunología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid. España.

^dServicio de Hepatología; ^eUnidad de Trasplante Hepático. IDIBAPS. CIBERehd de Hospital Clínic. Barcelona. España.

Introducción: Los receptores Toll-like (TLR) se caracterizan por reconocer patrones moleculares asociados a patógenos y a daño celular, activando la respuesta inmune innata e influyendo en la inducción de una respuesta adquirida adecuada. TLR3 se localiza en la membrana de los endosomas, tanto en células del sistema inmune como en diferentes células hepáticas. Su ligando principal es el RNA de doble cadena por lo que es fundamental en la respuesta antiviral, como es el caso del virus de la hepatitis C (VHC). Por otro lado, ciertas proteínas de este virus inhiben la función de TLR3 como mecanismo de evasión del sistema inmune. Los TLR también están involucrados en la respuesta inmune frente al injerto en pacientes con trasplante de órgano sólido y son críticos en el inicio del daño por isquemia-reperfusión. TLR3, por su localización intracelular puede reconocer ligandos endógenos producidos por daño celular por lo que puede estar relacionado con el rechazo del injerto.

Objetivos: Valorar si el polimorfismo genético Leu412Phe, que reduce la activación de TLR3, está relacionado con la gravedad de la recidiva del VHC y con la incidencia de rechazo agudo en pacientes trasplantados por cirrosis por VHC.

Métodos: Se incluyeron 99 receptores adultos que recibieron un primer trasplante hepático de donante cadáver por cirrosis por VHC y se analizaron 80 muestras de ADN de 80 donantes del injerto. La inmunosupresión inicial postrasplante consistió en inhibidores de calcineurina asociados a esteroides, micofenolato de mofetilo o azatioprina y/o anticuerpos anti-IL2. El polimorfismo Leu412Phe de

TLR3 se analizó mediante el análisis de las curvas de fusión con el sistema LightCycler 480. Se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas de los receptores y los donantes entre los pacientes clasificados según la presencia o no de rechazo agudo en los tres primeros meses después del trasplante y la presencia de recidiva grave (fibrosis 3-4 o cirrosis clínicamente establecida en los primeros 5 años después del trasplante).

Resultados: La presencia del genotipo homocigoto para el alelo mutado (TT) del polimorfismo en los receptores hepáticos se asoció con una menor incidencia de rechazo agudo ($p = 0,03$, con la corrección de Bonferroni) y este genotipo se mostró como factor protector de rechazo agudo frente al genotipo ancestral CC (Odds ratio = 0,09; intervalo de confianza del 95% = 0,01-0,83, $p = 0,016$). Esta asociación era independiente del inhibidor de la calcineurina utilizado como tratamiento inmunosupresor ($p = 0,1$). No se encontró relación entre el polimorfismo presente en los donantes y la incidencia de rechazo agudo, ni con el polimorfismo de los donantes o receptores y la gravedad de la recidiva.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que el polimorfismo genético Leu412Phe de TLR3 en receptores adultos de trasplante hepático por VHC podría ser un factor pronóstico protector de rechazo agudo.

PAPEL DE HDAC EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR Y ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ANTI-TUMORAL EN COMBINACIÓN CON SORAFENIB

C. Alsina^{a,b}, A. Lachenmayer^{b,c}, S. Toffanin^{b,d}, L. Cabellos^b, B. Mínguez^b, H.W. Tsai^b, Y. Hoshida^e, A. Villanueva^a, S.L. Friedman^b y J.M. Llovet^{a,b,f}

^aBarcelona Clinic Liver Cancer Group (BCLC; HCC Translational Research Laboratory. Liver Unit). IDIBAPS. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas. Hospital Clínic. Barcelona. España.

^bMount Sinai Liver Cancer Program. Mount Sinai School of Medicine. New York. NY. EE.UU.

^cDepartment of General, Visceral and Pediatric Surgery. University Hospital Düsseldorf. Alemania.

^dHepato-Oncology Group. Department of Surgery and Experimental Oncology. National Cancer Institute. Milán. Italia

^eCancer Program. Broad Institute of Harvard and MIT. Cambridge. MA. EE.UU.

^fInstitució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA).

Barcelona. España.

Introducción: El carcinoma hepatocelular (CHC) es un tumor de mal pronóstico con una compleja patogenia molecular. Las deacetilasas de histonas (HDAC) son reguladoras de la expresión génica y se sobreexpresan en algunos tumores. Los inhibidores de HDAC (iHDAC) muestran resultados prometedores en cáncer, pero se desconoce su eficacia en CHC.

Objetivos: Analizar la expresión y alteraciones cromosómicas de 11 HDAC en CHC y evaluar el efecto de panobinostat (Pan), un pan-iHDAC, solo y en combinación con sorafenib (Sor) en modelos preclínicos de CHC.

Métodos: Analizamos la expresión génica y alteraciones cromosómicas de 101 CHC, sus pares cirróticos, 18 nódulos displásicos y 10 muestras normales. Se agruparon de forma no supervisada las muestras de CHC en base a la expresión de 11 HDAC. Las líneas celulares Huh7, HepG2 y Hep3B se trataron con Pan, Sor y su combinación para evaluar viabilidad celular, proliferación y ciclo celular con MTT, incorporación de timidina y FACS, respectivamente. Ratones inyectados subcutáneamente con células Huh7 se aleatorizaron en controles ($n = 10$), Pan ($n = 14$, 15 mg/kg), Sor ($n = 12$, 30 mg/kg) y su combinación ($n = 12$, Pan 7,5 mg/kg, Sor 30 mg/kg). Se evaluó el crecimiento tumoral, toxicidad y supervivencia, así como la expre-

sión génica y protéica de moléculas reguladas por HDAC. También se analizó la densidad vascular, la tinción de Ki-67 y TUNEL.

Resultados: La clasificación molecular no supervisada de los CHC mostró un subgrupo de pacientes con marcadas alteraciones de HDAC1, 2 y 6 ($p < 0,001$) en comparación con tejido normal, cirrótico y displásico. Además HDAC3 y 5 presentan una sobreexpresión correlacionada con ganancias cromosómicas ($p < 0,004$). In vitro, Pan y su combinación con Sor disminuyen la viabilidad celular (hasta 26.3%) y proliferación (hasta 14,2%) con 72h en tratamiento. El análisis por FACS mostró un 23% de apoptosis en Huh7 tratadas con Pan y Sor combinados. In vivo, el grupo tratado con la combinación mostró una inhibición del crecimiento tumoral significativa (día 20, media volumen tumoral: Sor 806,7 mm³, Pan 531,2 mm³, y comb 227,3 mm³, $p < 0,01$) junto a un aumento de la supervivencia (mediana: Sor y Pan 22 días, combinación 33 días, $p < 0,05$). Los tumores obtenidos en este modelo tratados con Pan y su combinación con Sor mostraron un incremento de la acetilación de la histona 3 y el marcador de autofagia p62, también los genes regulados por HDAC Survivin y E-caderina se vieron significativamente alterados. El grupo combinación mostró una disminución de la densidad vascular, tinción Ki-67 y un incremento en tinción de TUNEL. Los genes regulados por HDAC Survivin y E-caderina también se vieron significativamente alterados en los tumores tratados con Pan en este modelo.

Conclusiones: La expresión de HDAC está disregulada en CHC. El iHDAC panobinostat presenta una alta eficacia preclínica en CHC, especialmente combinado con sorafenib, lo que da base racional para realizar estudios en fases clínicas iniciales.

LA EMBOLIZACIÓN PORTOSISTÉMICA RESULTA EFICAZ EN LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA CRÓNICA CON CHILD-PUGH ≤ 7

M. Simón-Talero Horga^a, M. Ventura^a, M. Pérez^b, R. Esteban^{a,c} y J. Córdoba^{a,c}

^aServicio de Medicina Interna. Hepatología; ^bServicio de Angiorradiología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España. ^cCIBERehd.

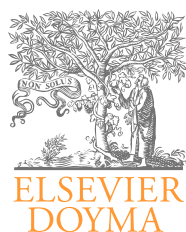
Introducción: Se ha propuesto la embolización de colaterales portosistémicas (ECPS) de gran tamaño (> 1 cm) en el tratamiento de la encefalopatía hepática crónica (EHC) en pacientes con bajo riesgo de hemorragia digestiva.

Objetivos: Evaluar la seguridad y eficacia de la ECPS. Sujetos: 15 pacientes (VHC = 7, alcohol = 5) sometidos a ECPS por EHC (recurrente = 9 pacientes con > 6 episodios o persistente = 2 pacientes) tras el diagnóstico de cirrosis hepática (96 ± 90 meses).

Métodos: Estudio retrospectivo (1998-2011). Se definió evolución favorable: incremento de la autonomía funcional + marcada disminución del número de episodios de EH + seguimiento superior a 6 meses.

Resultados: Todos los enfermos, excepto 1 que fue exitus a 1 mes, abandonaron el hospital. Del resto 9 presentaron una evolución favorable (8 totalmente autónomos, 1 parcialmente dependiente) y 5 una mala evolución (1 parcialmente dependiente, 4 institucionalizados). En los de evolución favorable: 4 presentaron un único episodio de EH que motivó un total de 10 días de hospitalización durante 44 ± 41 meses de seguimiento. Los 6 de evolución desfavorable continuaron mostrando EH durante 11 ± 9 meses de seguimiento (total 149 días de hospitalización). Se observó 1 exitus entre los 9 con evolución favorable a los 22 meses post-ECPS y 3 exitus entre los 6 con evolución desfavorable a los 1, 6 y 26 meses post-ECPS. Sólo un paciente presentó hemorragia digestiva 5 años post-ECPS. Entre los pacientes con Child-Pugh ≤ 7 ($n = 9$), solo un paciente (edad 83) tuvo una evolución desfavorable, mientras que entre los pacientes Child-Pugh > 7 todos excepto uno mostraron una mala evolución post-ECPS (prueba exacta de Fisher, $p = 0,01$). El paciente con Child-Pugh > 7 y evolución favorable era de etiología alcohólica y presentó una disminución de Child-Pugh de 8 a 5 en el seguimiento.

Conclusiones: La embolización de colaterales portosistémicas de gran tamaño es un procedimiento seguro en el tratamiento de los pacientes con EHC y bajo riesgo hemorrágico, que ofrece claros beneficios a los pacientes con un índice de Child-Pugh ≤ 7 .



COMUNICACIONES ORALES

XXXVII Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Sesión general 4

Moderadores: M. Hernández Guerra (Tenerife)
y Cristina Ripoll (Madrid)

LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL SE ASOCIA A MAL PRONÓSTICO EN LA CIRROSIS AVANZADA

J. Acevedo^{a,b,c,d,e}, J. Fernández^{a,b,c,d,e}, M. Castro^{a,b}, A. Silva^{b,e},
P. Ginès^{a,b,c,e} y V. Arroyo^{a,b,c,e}

^aCIBERehd.

^bDepartamento de Hepatología. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^cIDIBAPS.

^dInstituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

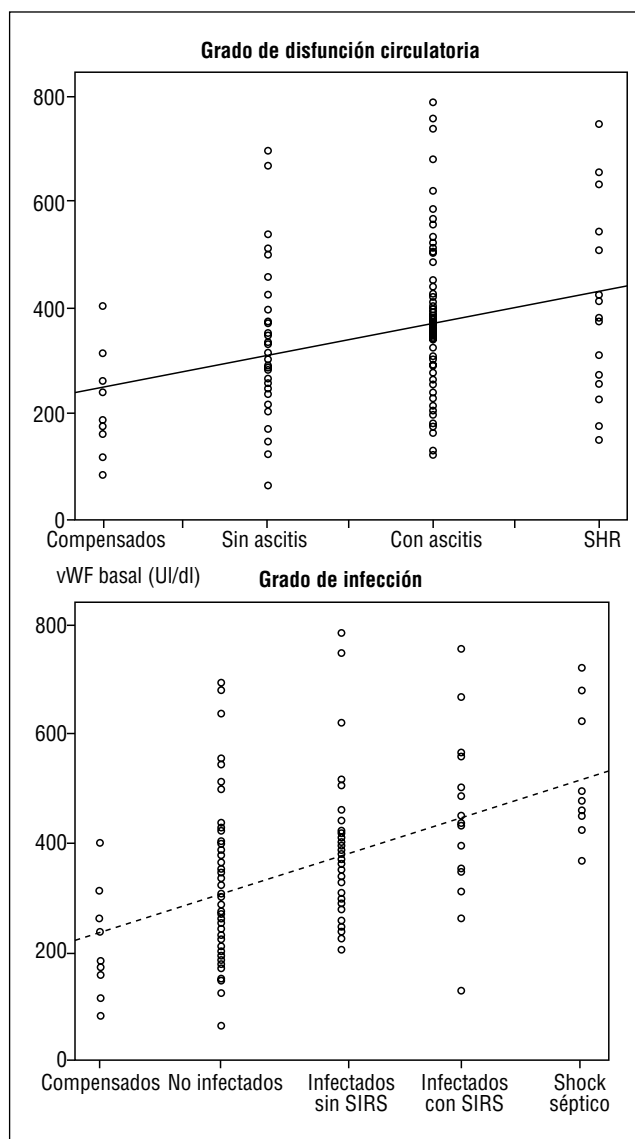
^eUniversidad de Barcelona. España.

Introducción: Datos preliminares sugieren que la disfunción endotelial (DE) juega un papel en la patogénesis de la disfunción circulatoria en la cirrosis avanzada. El factor de von Willebrand (vWF) es un reconocido marcador de DE.

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

Métodos: Este es un estudio prospectivo en el que se midió vWF sérico y hormonas vasoactivas dentro de las primeras 24 horas del ingreso en una serie consecutiva de pacientes con cirrosis descompensada ingresados en nuestra unidad entre los años 2007 y 2010.

Resultados: Se incluyeron 152 pacientes. Además se evaluaron 12 pacientes con cirrosis compensada y 12 con shock séptico. Al ingreso 25 pacientes ingresaron en la unidad de cuidados intensivos, 112 tuvieron ascitis, 68 estuvieron infectados, 51 tuvieron encefalopatía hepática, 22 hemorragia por varices y 17 síndrome hepatorenal (SHR). El vWF sérico basal aumentó en paralelo al grado de disfunción circulatoria (de cirrosis compensada a descompensada sin ascitis, con ascitis y SHR) y al grado de fallo hepático (262 ± 109, 303 ± 107 y 432 ± 154 UI/dL en Child-Pugh A, B y C, respectivamente). En los pacientes infectados el vWF incrementó en paralelo a la gravedad de la infección (fig.). Los pacientes con vWF ≥ 396 UI/dL (mejor punto de corte del área bajo la curva para mortalidad) presentaron una mayor probabilidad de desarrollar nuevas descompensaciones durante la hospitalización (24 vs 9%; p = 0,025) y una mayor mortalidad hospitalaria (22 vs 3%; p < 0,001).



Conclusiones: La disfunción endotelial, evaluada por los niveles séricos de vWF, se correlaciona con un mayor grado de disfunción circulatoria y con la gravedad de la infección en la cirrosis descompensada y se asocia a mayor mortalidad hospitalaria.

DESARROLLO DE UN MODELO DE DESCELULARIZACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE MATRICES HEPÁTICAS BIOARTIFICIALES

E. Velasco Sánchez, L. Rodríguez-Bachiller Villaronga, B. Díaz-Zorita Aguilar, L. Gómez Lanz, J.F. del Cañizo López, J. Vaquero Martín, E. Álvarez Fernández, M. Salcedo Plaza, J.L. García Sabrido y R. Bañares Cañizares

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Objetivos: Basándonos en experiencias previas de descelularización publicadas en animales de pequeño tamaño, planteamos el desarrollo de un modelo experimental reproducible para la obtención de matrices biológicas a partir de órganos sólidos de grandes mamíferos, con el objeto de utilizarlas como base para la creación de órganos bioartificiales funcionantes mediante la recelularización posterior de las mismas, y exportar el modelo al humano. Para ello, utilizaremos un sistema de perfusión de órgano aislado controlado por presión con monitorización continua, y una solución detergente que ya ha demostrado su eficacia en trabajos previos.

Métodos: Se obtuvieron 24 especímenes de hígado porcino, mediante técnica de extracción multiorgánica idéntica a la empleada en la donación cadavérica humana, con infusión hipotérmica de solución de preservación por vía portal y arterial. Una vez realizada la cirugía de banco, cada órgano se conectó al sistema de perfusión controlada y se inició la infusión continua de solución detergente durante 24h. El sistema incluye una bomba de infusión con control externo y un sensor de presión conectados a un ordenador con software de manejo desarrollado en nuestro centro. Una vez finalizado el proceso de descelularización, se comprobó la integridad macroscópica de los sistemas arterial, portal, biliar y venoso mediante radioscopia. Se realizó un examen histológico mediante microscopía convencional y electrónica, técnicas de inmunofluorescencia, así como determinación cuantitativa del residuo de DNA como control de calidad del proceso.

Resultados: Tras una experiencia preliminar con tres órganos, fuimos capaces de establecer los parámetros necesarios para el desarrollo del modelo de descelularización, con el que realizamos las experiencias posteriores. Una vez completado el modelo, conseguimos especímenes de hígado porcino completamente acelulares, con anatomía macroscópica conservada y objetivada mediante radioscopia, así como verificación microscópica de la integridad de la matriz extracelular y ausencia completa de restos celulares.

Conclusiones: Desarrollamos un modelo homogéneamente reproducible para la descelularización de órganos de grandes mamíferos que sirvan como matrices biológicas para su posterior recelularización. Este primer paso constituye el punto de partida de una línea de investigación cuyo objetivo final es crear órganos bioartificiales aptos para el trasplante en humanos.

LA INHIBICIÓN DE LAS FOSFATASAS DE TIROSINA CON METFORMINA AUMENTA LA RESPUESTA AL INTERFERÓN ALFA EN RATONES CON RESISTENCIA A LA INSULINA

J.A. Solís-Herruzo^a, P. Solís-Muñoz^b, E. Gómez-Izquierdo^a, A.M. Valverde^c, T. Muñoz-Yagüe^a e I. García-Ruiz^a

^aCentro de Investigación. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. España.

^bInstitute of Liver Studies. King's College. Londres. Reino Unido.

^cInstituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (Consejo Superior de Investigaciones Científicas). Madrid. España.

Introducción: En estudios previos hemos demostrado que la inducción de resistencia a la insulina en células HepG2 provoca un aumento de la actividad de las fosfatasa de tirosina (PTPs), en especial de la PTP-1B, y que ello se sigue de una menor respuesta al interferón-alfa (IFNa). Los objetivos de este estudio fueron: (1) comprobar que los ratones obesos, ob/ob, resistentes a la insulina, son también resistentes al IFNa, (2) que en estos ratones, la actividad de la PTP-1B en el hígado está aumentada y (3) que la inhibición de la PTP-1B con metformina aumenta la respuesta al IFNa.

Métodos: Cuarenta ratones fueron distribuidos en 8 grupos de 5 ratones cada grupo. Los grupos I al IV estaban formados por ratones C57BL/6J tratados durante 12 semanas, respectivamente, con: (I) 50 microlitros suero salino/día, (II) 2 microgramos/Kg/semana IFNa2a pegilado, (III) la misma dosis de IFNa2a junto con 24 mg/Kg/día metformina, i.p. y (IV) 24 mg/Kg/día metformina, i.p. Los grupos V al VIII estaban formados por ratones C57BL/6J Lep-/- (ob/ob), carentes de leptina, tratados durante 12 semanas de forma similar a los ratones de los grupos I al IV. La resistencia a la insulina fue valorada por la fosforilación de PKB/Akt en hígado 15 minutos tras la inyección peritoneal de 0,5 U/Kg de insulina. La respuesta al IFNa la valoramos por la expresión genética de las proteínas antivirales Mx y 2'5'-oligoadenilato sintetasa (2'5'OAS). Determinamos también en hígado la expresión genética de la PTP-1B (RT-PCR), su actividad enzimática (ELISA) y las tasas de TNFa (ELISA).

Resultados: (1) En los ratones ob/ob, la inyección peritoneal de insulina no provoca fosforilación de Akt. (2) Las tasas de TNFa en hígado de los ratones ob/ob son 10 veces más altas que en los ratones delgados. (3) Los ratones ob/ob, resistentes a la insulina, no responden al IFNa2a pegilado. (4) En estos ratones obesos, la expresión genética y la actividad de la PTP-1B está aumentada unas 2,5 veces sobre los controles delgados. (5) El tratamiento de los ratones ob/ob con metformina disminuye la actividad hepática de la PTP-1B y normaliza la respuesta a la insulina y al IFNa2a.

Conclusiones: La inhibición de la actividad de la fosfatasa de tirosina hepática con metformina normaliza la respuesta al IFNa y a la insulina.

LOS PACIENTES CIRRÓTICOS CON MAYOR CONTRACTILIDAD BASAL TIENEN MAYOR DECREMENTO DE LA FUNCIÓN SISTÓLICA EN SITUACIONES DE ESTRÉS

C. Ripoll^{a,b}, R. Yotti^c, D. Rincón^{a,b}, M. Puerto^{a,b}, Y. Benito^c, M.V. Catalina^{a,b}, M. Alhama^c, M. Salcedo^{a,b}, J. Bermejo^c y R. Bañares^{a,b}

^aCIBERehd.

^bServicio de Aparato Digestivo; ^cServicio de Cardiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Introducción: Los índices ecocardiográficos estándares de la función sistólica son difíciles de interpretar en situaciones con cambios en la pre y poscarga como la cirrosis. El gradiente de presión de eyección intraventricular (EIPVD) es un índice ecocardiográfico de función sistólica independiente de las condiciones de carga. El objetivo fue evaluar 1) la función sistólica en pacientes con cirrosis y los posibles mecanismos involucrados 2) los cambios en la función sistólica en pacientes con cirrosis tras incrementos de la pre y poscarga.

Métodos: Este estudio se compone de 2 subestudios en pacientes evaluados como candidatos a THO. Grupo (Gr). 1) Se les realizó ecocardiografía, Holter de 24h y determinación de sistemas vasoactivos (n = 59, Child A15, B25, C19). Gr. 2) A los 5 días tras la

retirada de betabloqueantes y diuréticos y dieta hiposódica, se realizó un cateterismo esplácnico, cardíaco derecho y ecocardiograma simultáneo con toma de muestras sanguíneas ($n = 11$, Child A2, B8, C1). Tras las medidas basales, se les administró fenilefrina (agonista alfa) para incrementar la TAS un 25% y se repitieron las medidas hemodinámicas y ecocardiográficas. Posteriormente se administró albúmina (1 g/kg) y las medidas se repitieron nuevamente.

Resultados: Gr. 1) La contractilidad cardíaca medida mediante EIPVD se asoció al grado de disfunción hepática de forma que los pacientes con mayor grado de Child tenían mayor EIPVD ($p = 0,047$), sin diferencias en la fracción de eyección. Se observaron hallazgos similares con la puntuación MELD ($r = 0,408$, $p = 0,001$). No se observaron diferencias en el EIPVD en función de la presencia de ascitis ni hubo correlación con la creatinina. El EIPVD se asoció a una mayor activación de los sistemas vasoactivos [noradrenalina ($r = 0,278$, $p = 0,038$), renina ($r = 0,239$, $p = 0,076$) y aldosterona ($r = 0,286$, $p = 0,031$)]. Además los pacientes con mayor EIPVD tenían menor variabilidad cardíaca (SDNN), un indicador de disfunción autonómica ($r = -0,311$, $p = 0,035$). Gr. 2) Los pacientes con mayor función sistólica basal, valorada por la EIPVD tuvieron una mayor disminución de EIPVD tras el aumento de la poscarga con fenilefrina ($r = -0,583$, $p = 0,099$). Se observaron hallazgos similares al correlacionar los cambios en EIPVD con la fracción de eyección tras la fenilefrina ($r = -0,733$, $p = 0,025$) y tras la expansión de volumen con la infusión de albúmina ($r = -0,786$, $p = 0,021$).

Conclusiones: Los pacientes con cirrosis tienen un incremento en la función sistólica basal asociado a la gravedad de la enfermedad hepática y a la activación de sistemas vasoactivos. Los pacientes con mayor contractilidad basal tienen una disminución mayor de la misma en situaciones de estrés.

EPCAM Y AFP: MARCADORES DE MAL PRONÓSTICO EN LOS PACIENTES CON HEPATOBLASTOMA

C. Armengol^{a,b}, S. Ragull^{a,b}, I. Serra^{a,b}, M. Garrido^c, P. Czauderna^d, R. Maibach^d, R. Bartol^í^{a,b}, M. Sala^{a,b} y R. Planas^{a,b}

^aCIBERehd.

^bServicio de Aparato Digestivo. Fundación Instituto en Ciencias de la Salud Germans Trias i Pujol (IGTP). Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

^cServicio de Anatomía Patológica. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

^dInternational Childhood Liver Tumours Strategy Group (SIOPEL).

Introducción: El hepatoblastoma (HB) es el principal tumor hepático en niños. A diferencia del carcinoma hepatocelular, la mayoría de casos son espontáneos. La curación se consigue con quimioterapia seguida de resección quirúrgica o trasplante hepático. No obstante, una cuarta parte de los pacientes no sobrevive a la enfermedad debido a la resistencia a la quimioterapia. El hecho de que las células de este tumor recuerden a los hepatoblastos -células precursoras de los hepatocitos- y que el desarrollo del HB se produzca a edades tempranas sugiere que este tumor podría originarse a partir de la transformación neoplásica de células progenitoras durante el desarrollo embrionario del hígado. A nivel molecular, la alteración de la vía de señalización Wnt/ β -catenina es un signo característico del HB, describiéndose mutaciones activadoras del gen de la β -catenina (CTNNB1) en un 50-80% de casos.

Objetivos: Estudiar la expresión de marcadores de células progenitoras hepáticas en HB y su asociación con la vía de señalización Wnt/ β -catenina, el grado de proliferación tumoral y las características clínicas de los pacientes.

Métodos: Se estudió la expresión de EpCAM, AFP, KRT19, β -catenina y Ki67 por inmunohistoquímica en un microarray de tejido con muestras de HBs ($n = 48$ pacientes; edad media: 2 años; niveles AFP: 150-4.700.000 ng/ml; 8 casos con metástasis al diagnóstico; seguimiento medio: 63 meses; 7 recidivas), hígado no tumoral ($n = 10$) e hígado fetal ($n = 6$). La mayoría de los pacientes recibieron quimioterapia según el protocolo SIOPEL 3.

Resultados: Se observó la sobreexpresión de los marcadores de células progenitoras hepáticas, EpCAM, AFP y KRT19 en un 48, 34 y 32% de los casos, respectivamente. Además, un 85% de éstos presentaban alteración de la vía Wnt/ β -catenina con expresión citoplasmática y/o nuclear de β -catenina. Los tumores con sobreexpresión de EpCAM presentaban también sobreexpresión de AFP ($p = 0,011$), proliferación elevada ($p = 0,005$) y acumulación nuclear de β -catenina ($p = 0,013$). Clínicamente, la sobreexpresión de EpCAM se asoció con una menor probabilidad de supervivencia libre de enfermedad (log rank = 0,022) y resistencia a la quimioterapia ($p = 0,05$).

Conclusiones: La sobreexpresión de los marcadores de células progenitoras hepáticas EpCAM y AFP es un factor de mal pronóstico en pacientes con HB. EpCAM, gen diana de la β -catenina y transductor de señales proliferativos, podría ser una buena diana terapéutica para aquellos pacientes resistentes a las terapias actuales.

ESTUDIO DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C UTILIZANDO UN SISTEMA CELULAR BASADO EN LA SECRECIÓN DE GAUSSIA LUCIFERASA

G. Koutsoudakis, S. Pérez del Pulgar, P. González, G. Crespo, M. Navasa y X. Forns

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

Introducción y objetivos: El cultivo celular del virus de la hepatitis C (VHC) está prácticamente restringido al genoma JFH-1 (genotipo 2a). Dado que el VHC derivado de suero de pacientes replica a niveles bajos in vitro, es necesario el desarrollo de sistemas muy sensibles para evaluar su infectividad en cultivo. Un sistema así sería de gran utilidad para seleccionar aquellos sueros que contienen los virus más infecciosos in vitro y para clonar nuevos aislados.

Métodos: Se ha generado una línea celular (Huh7.5/EGFP-GL) que expresa de forma estable la proteína verde fluorescente (EGFP) fusionada con la gaussia luciferasa, mediante una secuencia de reconocimiento de la proteasa NS3/4A del VHC. Después de la infección por el VHC, la proteasa corta en su sitio de reconocimiento y la gaussia luciferasa se secreta al medio de cultivo; la intensidad de la actividad luciferasa se determina por luminometría y se correlaciona con la infectividad del virus.

Resultados: La línea celular Huh7.5/EGFP-GL permitió la cuantificación rápida y sensible de la infección por el VHC utilizando la cepa JFH-1. El tratamiento de las células con inhibidores de la entrada y de la replicación del virus produjo una disminución de la secreción de gaussia luciferasa de forma dosis-dependiente. Por otra parte, también se investigó la capacidad replicativa in vitro del VHC presente en los sueros de pacientes infectados (genotipo 1b y con elevada carga viral). De los 86 sueros analizados, 4 fueron capaces de infectar y replicar in vitro.

Conclusiones: La línea celular Huh7.5/EGFP-GL es un buen sistema para la identificación de sueros que contienen VHC capaz de replicar in vitro. Estos sueros podrían ser la base para clonar nuevos genomas del VHC. Además, podría ser una herramienta sensible para el cribado de inhibidores de la entrada viral y de otros compuestos antivirales.

LA DETERMINACIÓN DE NIVELES URINARIOS DE NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN (NGAL) URINARIA ES ÚTIL EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE NECROSIS TUBULAR AGUDA Y SÍNDROME HEPATORRENAL CLÁSICO EN LA CIRROSIS

R. Barreto Ríos^a, C. Gonçalves Fagundes^a, M. Noelle Pépin^a, M. Guevara^a, G. Casals^{b,c}, E. Solà^a, E. Rodríguez^a, G. Pereira^a, E. García^c, E. Poch^c, W. Jiménez^a, V. Arroyo^a y P. Ginès^a

^a*Liver Unit-Institut de Malalties Digestives. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBERehd. Universidad de Barcelona. España.*

^b*Centro de Investigación Biomédica en Red de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd).*

^c*IDIBAPS.*

Introducción: La insuficiencia renal es una alteración frecuente en los pacientes con cirrosis, especialmente en estadios avanzados de su enfermedad. El diagnóstico diferencial de la causa de insuficiencia renal es muchas veces difícil de establecer puesto que no se dispone de biomarcadores específicos. El diagnóstico diferencial es especialmente importante entre síndrome hepatorenal (SHR) y necrosis tubular aguda (NTA). La Neutrophil Gelatinase Associated-Lipocalin (NGAL) es un biomarcador renal cuya concentración urinaria aumenta cuando existe lesión tubular y puede ser útil en el diagnóstico de la insuficiencia renal aguda (IRA).

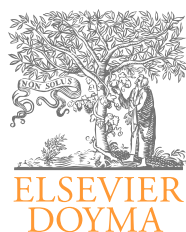
Objetivos: Evaluar la utilidad de la NGAL en el diagnóstico diferencial de la insuficiencia renal en los pacientes con cirrosis.

Métodos: Se realizó un estudio prospectivo de 241 pacientes con cirrosis, 72 sin ascitis, 85 con ascitis sin insuficiencia renal y 84 con ascitis e insuficiencia renal. Los pacientes con insuficiencia renal

fueron clasificados en 5 categorías: NTA (11 pacientes), insuficiencia renal crónica (IRC) (14 pacientes), insuficiencia renal pre-renal por hipovolemia (16 pacientes) y SHR (33 pacientes), mientras que 10 pacientes fueron inclasificables. Los niveles de NGAL en plasma y orina se midieron mediante ELISA.

Resultados: Los pacientes con insuficiencia renal tuvieron valores elevados de NGAL urinaria en comparación con los pacientes sin ascitis y los pacientes con ascitis sin insuficiencia renal. Los pacientes con NTA tuvieron niveles de NGAL urinaria significativamente mayores (417 $\mu\text{g/g}$ creatinina (238-2,342) mediana (rango intercuartílico) que los otros 4 tipos de insuficiencia renal [insuficiencia renal pre-renal por hipovolemia 30 (25-59); IRC 88 (33-151); SHR 76 (42-262); inclasificables 62 (38-176) $\mu\text{g/g}$ creatinina; $p < 0,001$ para todos los grupos]. Entre los pacientes con SHR, los valores más altos de NGAL urinaria se observaron en los pacientes con SHR asociado a infecciones, seguidos por el SHR clásico (sin evidencia de infección) tipos 1 y 2: 391 (72-523), 153 (76-391) y 43 (30-75) $\mu\text{g/g}$ creatinina, respectivamente; $p < 0,001$. Los pacientes con NTA presentaron valores de NGAL en orina significativamente superiores que los pacientes con SHR clásico tipo 1 ($p < 0,05$). No se evidenció ninguna relación entre los valores de NGAL plasmática y el tipo de insuficiencia renal.

Conclusiones: Los pacientes con cirrosis y NTA presentan niveles urinarios elevados de NGAL en comparación con los pacientes con cirrosis e insuficiencia renal de otras etiologías incluyendo el SHR, la IRC y la insuficiencia renal pre-renal por hipovolemia. Por tanto, los niveles urinarios de NGAL son útiles en el diagnóstico diferencial entre NTA y SHR clásico. La determinación de NGAL en orina puede facilitar el tratamiento farmacológico precoz del SHR y evitar el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal de otras etiologías, en particular NTA.



Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



COMUNICACIONES ORALES

XXXVII Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Sesión general 5

Moderadores: Javier Vaquero (Madrid) y Gonzalo Crespo (Barcelona)

LA SEDACIÓN PROFUNDA AUMENTA LA VARIABILIDAD Y DISMINUYE LA FIABILIDAD DE LAS MEDICIONES DEL GRADIENTE DE PRESIÓN PORTAL EN PACIENTES CON CIRROSIS

E. Reverter Segura^{a,b}, A. Blasi^c, J. González-Abraldes^{a,b}, G. Martínez-Palli^c, S. Seijo^{a,b}, A. Berzigotti^{a,b}, J. Balust^c, J. Bosch^{a,b} y J.C. García-Pagán^{a,b}

^aCIBERehd.

^bLaboratorio de Hemodinámica Hepática. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. España.

^cServicio de Anestesia. Hospital Clínic de Barcelona. España.

Introducción y objetivos: la medición del gradiente de presión venoso hepático (GPVH) ofrece información pronóstica en pacientes cirróticos. Aunque es un procedimiento mínimamente invasivo, en ocasiones (niños, pacientes agitados, realización de TIPS) se necesita una sedación profunda con propofol/remifentanilo. El estudio actual evalúa la fiabilidad de las mediciones hemodinámicas realizadas bajo sedación profunda.

Métodos: Se incluyeron 35 pacientes: 23 durante realización de TIPS y 12 en medición de GPVH con catéter-balón. Se registraron las presiones hepáticas con el paciente despierto y bajo sedación profunda. En 13 de los 23 TIPS se midió, además del gradiente de presión portal (GPP) post-TIPS, el GPVH previo al TIPS. Así, se obtuvieron valores en vigilia y bajo sedación de GPVH en 25 pacientes y de GPP en 23. Se midieron además los parámetros hemodinámicos cardiopulmonares y sistémicos. El propofol/remifentanilo se administró con sistema TCI (target controlled infusion) para alcanzar un Ramsay score de 4 (sedación profunda).

Resultados: Bajo sedación profunda se observó una notable oscilación respiratoria en las presiones libre/enclavada hepáticas (rango 0-36,5 mmHg), cava inferior y portal. La media de los GPVH obtenidos bajo sedación (tele-inspiración, tele-espiración, o media de todo el ciclo respiratorio) no fue significativamente diferente a

la media del GPVH en vigilia ($15,7 \pm 4,7$ mmHg). Sin embargo, se observó una importante variabilidad individual con coeficientes de correlación intra-clase (CCI) con el GPVH despierto que oscilaban entre 0,67 (GPVH medio a lo largo del ciclo) y 0,88 (GPVH tele-espiratorio). Aun con este último, el GPVH en vigilia difería del obtenido bajo sedación más del 10% en el 48% de pacientes. Los valores de GPP obtenidos bajo sedación tras el TIPS (tele-inspiratorio $11,9 \pm 6,6$, tele-espiratorio $10,3 \pm 4,5$, medio $10,8 \pm 4,7$ mmHg) mostraron una pobre concordancia con el GPP despierto (12,8 mmHg) (todos los CCI < 0,8). Bajo sedación, el GPP clasificó mal a 5/23 pacientes según el umbral con relevancia clínica de 12 mmHg, infravalorándolo en 4 de estos 5 pacientes. Durante la sedación bajaron la resistencia periférica, presión arterial (-12,4 mmHg), frecuencia respiratoria, y aumentaron la presión auricular derecha y pulmonar, y la resistencia pulmonar. Ninguno de estos cambios sistémicos, ni las características basales de los pacientes permitieron predecir el cambio en el valor del GPVH/GPP causado por la sedación. La alta variabilidad observada viene influida tanto por un efecto directo de las drogas anestésicas como por la dificultad en la interpretación por la marcada oscilación respiratoria.

Conclusiones: La sedación profunda con propofol/remifentanilo reduce sustancialmente la fiabilidad en las mediciones de GPVH y GPP. Esto es importante al usar estos parámetros como marcadores pronósticos. Estos cambios podrían ser incluso mayores cuando las mediciones se realizan bajo anestesia general y ventilación mecánica.

LA ACIDEZ DEL MICROAMBIENTE TUMORAL INDUCE LA EXPRESIÓN DE MARCADORES DE CÉLULA PROGENITORA EN LÍNEAS CELULARES DERIVADAS DE HEPATOCARCINOMA (CHC) HUMANO

L. Boix Ferrero, J.M. López-Oliva, A. Forner, M. Reig y J. Bruix Tudó

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

Introducción: El microambiente tumoral regula el fenotipo de las células que lo forman. La hipoxia causada por el crecimiento tumoral y tratamientos antiangiogénicos inducen un cambio metabólico en las células tumorales y causan acidificación del entorno celular. Este hecho podría favorecer la aparición y el mantenimiento de células tumorales con fenotipo de célula progenitora.

Objetivos: Analizar los efectos in vitro del pH ácido, dependiente e independiente de hipoxia, en la adquisición de fenotipo de célula progenitora en las líneas celulares BCLC10 derivadas de CHC humano, en comparación con células que ya expresan fenotipo progenitor.

Métodos: Cultivo celular en hipoxia y en condiciones de pH ácido: Todas las líneas celulares se cultivaron en condiciones de hipoxia (1% O₂, 5% CO₂) y medio de cultivo a pH 7,4 un mínimo de 30 días. Paralelamente, las líneas celulares se cultivaron en condiciones de normoxia (21% O₂, 5% CO₂) manteniendo el medio de cultivo a pH 6,5, los efectos se analizan a 1 y 3 horas de tratamiento. La apoptosis se analizó por determinación de actividad de caspasa-3. El análisis de expresión génica se realizó mediante retrotranscripción y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (real time RT-PCR) y se analizaron marcadores de célula progenitora (OCT4, SOX2, NANOG, CD133, NOTCH1 y BMI-1), expresión de cMYC, marcadores inducidos por hipoxia (HIF1A, HIF2A, VEGFA, GLUT1, CAIX y MCT4) y marcadores de proliferación celular: CCND1 (ciclina D1) e inhibición de la proliferación celular: CDKN1A (p21).

Resultados: En condiciones basales BCLC5, BCLC6 y BCLC9 sobreexpresan todos los marcadores de célula progenitora. BCLC10 sobreexpresa CD133, NOTCH1 y BMI-1 pero no perfil progenitor dado que es OCT4, SOX2 y NANOG negativa. La expresión de cMYC está incrementada únicamente en BCLC9 y BCLC10. Hipoxia y acidez no modifican la expresión de marcadores de célula progenitora en BCLC5, BCLC6 y BCLC9. En cambio, ambas condiciones inducen claramente fenotipo progenitor con expresión de OCT4, SOX2 y NANOG en BCLC10. Todas las líneas celulares muestran una ralentización en la proliferación celular tanto en condiciones de hipoxia como de pH ácido debido a un aumento en la expresión de p21 y disminución de ciclina D1. Caspasa-3 no muestra actividad en ambas condiciones lo que descarta muerte celular por estrés ácido. La hipoxia incrementa la capacidad invasiva por aumento en la expresión de genes de destrucción de matriz extracelular (MMP2 y MMP9) en todas las líneas celulares. Sólo BCLC10 las induce en pH ácido. La acidificación del medio incrementa la expresión de GLUT1, CAIX y MCT4 reflejando cambio metabólico, pero no de VEGFA que sólo se induce en condiciones de hipoxia.

Conclusiones: La acidificación, dependiente e independiente de hipoxia, reduce la proliferación celular pero al mismo tiempo induce una mayor capacidad invasiva. Además, favorece la adquisición de perfil de célula progenitora en las células tumorales que expresan cMYC. Estos datos sugieren que la acidificación del microambiente asociada a la proliferación tumoral y a la isquemia inducida por tratamiento induce cambios celulares que implican mayor malignidad.

LA MELATONINA REDUCE LA INFLAMACIÓN Y PROMUEVE LA REGENERACIÓN HEPÁTICA EN CONEJOS CON FALLO HEPÁTICO FULMINANTE DE ORIGEN VÍRICO

B. San-Miguel^{a,b}, A. Laliena^b, I. Crespo^{a,b}, D. Vallejo^b, M. Álvarez^c, J. González-Gallego^{a,b} y M.J. Tuñón^{a,b}

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd).

^bInstituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED); ^cDepartamento de Sanidad Animal. Universidad de León. España.

Introducción: En el pronóstico del fallo hepático fulminante (FHF) una de las fases más críticas es la puesta o no en marcha de diversos mecanismos de regeneración hepática. La enfermedad hemorrágica del conejo (RHD), producida por un virus de la familia Caliciviridae, causa en estos animales una hepatitis aguda mortal que cumple los criterios para ser considerada un modelo animal adecuado de FHF.

Objetivos: Determinar el efecto de la administración de melatonina sobre la respuesta inflamatoria y regenerativa en un modelo animal de FHF de origen vírico.

Métodos: Se infectaron conejos de raza Nueva Zelanda blanca de 9 semanas mediante inyección i.m. de 20.000 unidades hemoaglutinantes del virus de la RHD (RHDV). La mitad de los animales recibieron melatonina vía i.p. (dosis de 10 y 20 mg/kg, n = 6 cada uno), y la otra mitad recibieron solución salina (n = 6), a las 0, 12 y 24 hpi. Los animales tratados y no tratados fueron sacrificados a las 36 horas de la infección (hpi). Se determinó la expresión hepática de IL-6, IL-1beta, TNF-alfa, proteína C reactiva (CRP), metaloproteínasa (MMP)9, factores de crecimiento de hepatocitos (HGF), derivado de plaquetas (PDGF), epidérmico (EGF) y sus correspondientes receptores (c-Met, PDGFR, EGFR), por RT-PCR y del factor acelerador de la degradación (DAF/CD55), el receptor tipo toll (TLR)4, las proteínas quinasas activadas por mitógenos c-Jun N-terminal (JNK) y ERK así como el factor de transcripción STAT3, mediante western blot.

Resultados: El aumento significativo de las actividades ALT y AST observado a las 36 hpi, se previno de modo significativo en los conejos tratados con melatonina de un modo dosis dependiente. El RHDV provoca en los conejos una respuesta inflamatoria y daño hepático con incrementos significativos de las concentraciones de ARNm de IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, CRP y en la fosforilación de JNK. La administración de melatonina en los conejos infectados disminuyó tales incrementos de manera dependiente de la dosis. Además, la melatonina atenúa la inhibición de la respuesta regenerativa hepática inducida por el RHDV, con aumentos de expresión de HGF, PDGF, EGF, VEGF. C-Met, PDGFR y EGFR. Asimismo, los efectos pro-regenerativos de la melatonina se ponen de manifiesto por los aumentos significativos que induce en la expresión de ERK y STAT3 respecto a los conejos infectados no tratados.

Conclusiones: En el FHF inducido por el RHDV se produce una activación muy significativa de la respuesta inflamatoria junto con una inhibición de diversos factores implicados en el mecanismo de regeneración hepática que parecen jugar un papel clave en la regulación de la muerte celular en el FHF. Los datos obtenidos en nuestro estudio indican que la melatonina logra inhibir en gran medida la respuesta inflamatoria y preserva la regeneración hepática en conejos con FHF inducido por el RHDV. Por ello, la melatonina podría constituirse como una sustancia hepatoprotectora en el fallo hepático agudo de origen vírico.

SITUACIÓN HEPÁTICA DE LOS PACIENTES VHC-POSITIVOS EN HEMODIÁLISIS: RESULTADOS DEL ESTUDIO MULTICÉNTRICO NACIONAL SHECTS

S. Aoufi Rabih^a, R. García Agudo^b y G. Barril Cuadrado^c

^aServicio de Aparato Digestivo; ^bServicio de Nefrología. Complejo Hospitalario La Mancha-Centro. Ciudad Real. España.

^cServicio de Nefrología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

Introducción: La prevalencia del VHC en hemodiálisis en España es del 22%, según el último registro publicado en 2004. Las guías clínicas (AASLD, AGA, KDIGO, SEN) recomiendan el estudio de hepatopatía en los pacientes VHC(+) candidatos a trasplante renal. El estudio SHECTS (situación hepática de los pacientes VHC(+) en hemodiálisis), avalado por el Grupo de Virus en Diálisis de la Sociedad Española de Nefrología, tiene como objetivo determinar el nivel de estudio y seguimiento de los pacientes con hepatitis C crónica en hemodiálisis, con el fin de unificar criterios a nivel nacional e involucrar tanto a nefrólogos como a hepatólogos en su manejo.

Métodos: Se trata de un estudio nacional multicéntrico, observacional, descriptivo, de corte transversal, aprobado por el CEIC del centro coordinador y realizado entre septiembre de 2010 y 2011.

Se confeccionó un cuaderno de recogida de datos para incluir información de la unidad de hemodiálisis (número total de pacientes, número de VHC(+)), filiación del paciente (edad, índice de masa corporal), situación nefrológica (tiempo en hemodiálisis, acceso vascular, anticoagulación, situación de trasplante renal), situación hepatológica (carga viral, genotipo, enolismo, coinfección VHB/VIH, función hepática, tratamiento del VHC, hipertensión portal y complicaciones asociadas, situación de trasplante hepático, seguimiento en Digestivo, gastroscopia, ecografía, gradiente de presión venoso hepático, biopsia hepática), autovaloración del cuestionario. El cuaderno de recogida de datos fue enviado a todas las unidades de hemodiálisis de España.

Resultados: Participaron 187 unidades de hemodiálisis (71 hospitales, 116 centros periféricos). De los 12.380 pacientes recogidos, 694 eran VHC(+), lo que arroja una prevalencia del VHC en hemodiálisis del 5,6%. De 187 centros, 142 tenían pacientes VHC(+) (75,6%). Sexo: 57,2% hombres. Edad media: $58,8 \pm 15,1$ años. IMC $< 20 \text{ kg/m}^2$: 23,2%; sobrepeso u obesidad: 28,2%. Etiología de la enfermedad renal crónica: 25% glomerular, 17% diabética, 21% no filiada, 15% tubulointersticial, 6% vascular, 5% poliquistosis, 22% otra. Tiempo medio en hemodiálisis: 4,5 años. Trasplante renal previo: 48,8%. Ausencia de anticoagulación intradiálisis: 18,7%. Candidato a trasplante renal: 40,9%; activo en lista de espera, 17,3%. Enolismo: 11,6%. Coinfección por el VHB: 5,7%; VIH, 6,7%. Genotipo 1: 87,8% de los filiados; no filiado, 64%. Carga viral: 72,7% < 600.000 copias; 42,7% < 400 copias. Transaminasas: normales, 92,2%. HTP: 11,1%; complicaciones: 3,8%. Gastroscopia, 28,4%; ecografía, 38,7%; GPVH, 2,1%; biopsia hepática, 10,8%. Tratamiento antiviral: ninguno, 73,4%. Trasplante hepático: candidato y activo, 1,6%; no evaluado, 32,8%. Seguimiento en Digestivo: 36,6%. El 83,3% de los investigadores afirmó que el cuestionario les había ayudado a valorar el manejo que realizaban sobre sus pacientes.

Conclusiones: La prevalencia del VHC en hemodiálisis en España ha disminuido notablemente desde 2004, igualándose a países de nuestro entorno. Los pacientes VHC(+) en hemodiálisis tienen un estudio incompleto o nulo de su hepatopatía. El número de pacientes que son tributarios de tratamiento del VHC y no tratados es considerable, siendo además pacientes con carga viral baja o muy baja y con riesgo de complicaciones en el postrasplante renal. Es necesario establecer protocolos de manejo conjunto entre nefrólogos y hepatólogos para mejorar el seguimiento de estos pacientes.

UTILIDAD DE LA METABOLÓMICA PARA ESTABLECER LA GRAVEDAD Y PREDECIR LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN LA HEPATITIS ALCOHÓLICA. RESULTADOS PRELIMINARES

J. Michelena^a, C. Alonso^b, J. Barr^b, J. Altamirano^a, I. Martínez-Arranz^b, R. Bataller^a, M.L. Martínez-Chantar^c, A. Castro^b, J.M. Mato^c y J. Caballería^a

^aUnidad de Hepatología. Hospital Clínic. CIBERehd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. España.

^bOWL Genomics. Derio. Vizcaya. España.

^cCICbioGUNE. CIBERehd. Derio. Vizcaya. España.

Los pacientes con una hepatopatía alcohólica presentan con frecuencia algún episodio de hepatitis alcohólica (HA) a lo largo de su evolución. El espectro clínico de la HA es muy variable y va desde formas leves a formas graves con una elevada mortalidad inmediata. Los corticosteroides son el tratamiento recomendado en la HA grave, aunque distan de ser el tratamiento ideal ya que no todos los pacientes responden al tratamiento y, además, no están exentos de complicaciones. El presente estudio, aún en progreso, se ha diseñado con el objetivo de identificar posibles perfiles metabólicos relacionados con la gravedad de la HA y la respuesta al tratamiento con corticoides. Se trata de un estudio prospectivo en el que se

incluyen todos los pacientes diagnosticados de HA por criterios clínicos, biológicos y con confirmación histológica. Hasta el momento se han incluido 35 pacientes con una HA, clasificados en leves (13) y graves (22) según el índice ABIC, tratados con abstinencia, medidas de soporte y corticosteroides de acuerdo con las guías clínicas establecidas. Aparte de las determinaciones clínicas y analíticas convencionales se les determina en una muestra de suero obtenida en el momento de la biopsia el perfil metabólico, mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas, analizándose de forma semicuantitativa 400 lípidos y 20 aminoácidos. Los pacientes con HA presentan un perfil metabólico distinto de acuerdo con la gravedad, observándose diferencias significativas en los niveles de distintas familias de glicerofosfolípidos, de manera que los pacientes con una HA grave tienen valores séricos significativamente más bajos de lisofosfatidilcolinas que los pacientes con HA leve y en cambio más elevados de los diacilfosfolípidos derivados de etanolamina e inositol. También se han observado diferencias significativas en el perfil metabólico entre los respondedores y no respondedores al tratamiento con corticosteroides, especialmente a nivel de lisofosfatidilcolinas y de triacilglicéridos poli-insaturados de cadena entre 48 y 52 átomos de carbono. Estos resultados iniciales sugieren que los pacientes con HA presentan un perfil metabólico distinto en relación a la gravedad y que la metabolómica puede contribuir a identificar a los pacientes respondedores al tratamiento con corticosteroides.

TERUTROBAN, ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DEL TXA₂/PGH₂, DISMINUYE LA PRESIÓN PORTAL, MEJORA LA RESISTENCIA INTRAHEPÁTICA Y AUMENTA LA BIODISPONIBILIDAD DE ÓXIDO NÍTRICO EN HÍGADOS DE RATAS CIRRÓTICAS

E. Rosado, A. Rodríguez-Vilarrupla, J. Gracia-Sancho, H. García-Calderó, J. Bosch y J.C. García Pagán

Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBEREHD. Universitat de Barcelona. España.

Introducción: En hígados cirróticos, una baja biodisponibilidad de óxido nítrico (ON) y una elevada producción de prostanoïdes vasoconstrictores, como el tromboxano A₂, modulan el tono vascular hepático. El bloqueo del receptor de tromboxano A₂/prostaglandina-H₂ (TP) corrige la disfunción endotelial de los hígados cirróticos. Además, en células endoteliales sinusoidales del hígado cirrótico, la inhibición de la producción de prostanoïdes promueve un aumento en los niveles de ON endotelial.

Objetivos: Evaluar en ratas cirróticas los efectos del bloqueo in vivo del receptor TP sobre la hemodinámica hepática y sistémica y su efecto sobre la vía del ON.

Métodos: Se utilizaron ratas con cirrosis por ligadura del colédoco (CBDL). A las dos semanas de la ligadura se inició tratamiento con el antagonista selectivo del receptor del TP (terutroban; 30 mg/kg/día; n = 14) o con su vehículo (1% hidroxietilcelulosa; n = 16), por gavage. Dos semanas más tarde, se determinó in vivo: presión arterial media (PAM), presión portal (PP), flujo portal (FP) y flujo de la arteria mesentérica superior (FAM). Tras ello, en un subgrupo de ratas CBDL-terutroban y vehículo se evaluó el efecto sobre la PP y la PAM de la administración del agonista selectivo del receptor del TP, U46619. En homogenados hepáticos, se evaluó la activación de la sintasa del ON endotelial (eNOS) mediante expresión de eNOS fosforilada y eNOS total por Western Blot y la biodisponibilidad de ON mediante la medición de los niveles del marcador secundario GMPc por ensayo inmunoenzimático. Se evaluó el grado de fibrosis mediante tinción con Sirius Red.

Resultados: En ratas CBDL, terutroban disminuyó de forma significativa la PP ($17,3 \pm 2 \text{ mmHg}$ vehículo vs $15,2 \pm 2 \text{ mmHg}$ terutroban; -12%, $p < 0,05$) sin modificar el FP, lo que sugiere una reducción

significativa de la resistencia vascular intrahepática ($22,3 \pm 7,5$ mmHg/mL.min⁻¹ vehículo vs $17,8 \pm 5,2$ mmHg/mL.min⁻¹ terutroban, -22%, $p < 0,05$). Estos cambios se acompañaron de un descenso marcado y significativo de la PAM (91 ± 16 mmHg vehículo vs 70 ± 8 mmHg terutroban, $p < 0,05$) sin cambios en el FAM, lo que sugiere una menor resistencia arteriolar esplácnica. En ratas CBDL-vehículo, U46619 produjo un aumento significativo de la PAM y de la PP que no sucedió en ratas CBDL-terutroban, indicando que el receptor TP estaba bloqueado. Asimismo, los hígados de ratas CBDL-terutroban presentaron una fosforilación de eNOS, una expresión de eNOS y unos niveles de GMPc significativamente superiores que los hígados de ratas CBDL-vehículo ($4,1 \pm 2,9$ pmol/ml vehículo vs $7,2 \pm 2,7$ pmol/ml terutroban, $p < 0,05$) sin observarse cambios en la cantidad de fibra.

Conclusiones: El bloqueo selectivo del receptor TP disminuye la presión portal a través de una disminución de la resistencia vascular hepática, probablemente debido al efecto combinado del propio bloqueo del receptor del TP y del aumento del ON intrahepático. Sin embargo, la caída de la PP se acompañó de una disminución de la MAP.

EN TRASPLANTADOS POR VHC, LA MEJORÍA EN LOS RESULTADOS DEL TRATAMIENTO ES MENOR CUANDO SE INICIA EN ESTADIOS AVANZADOS DE FIBROSIS

M. García Eliz^a, A. Rubín^b, V. Aguilera^{a,b}, E. Cerrillo^a, C. Ortiz^b, M. Jiménez^b, F. Sanjuán^a, R. López-Andújar^a, M. Prieto^{a,b} y M. Berenguer^{a,b}

^aHospital La Fe. Valencia. España.

^bCIBERehd. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

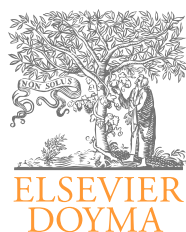
Introducción y objetivos: La respuesta virológica sostenida (RVS) se asocia a mejoría histológica y aumento de la supervivencia en trasplantados hepáticos por VHC. No está claro si estos beneficios pueden obtenerse con independencia del grado basal de la enfermedad. El objetivo fue evaluar el impacto del tratamiento

sobre la progresión de la hepatitis C recurrente y la supervivencia de los pacientes.

Métodos: La población del estudio fue una cohorte de 114 trasplantados con hepatitis C recurrente no colestásica tratados con interferón pegilado (pegIFN) y ribavirina (RBV). Se compararon los cambios en el estadio de fibrosis (F) y en la supervivencia entre pacientes con RVS (43%) frente a los no respondedores (57%), clasificados según la severidad basal en leve (F 0-1; 45%) vs grave (F3-4; 55%). Se consideró como mejoría histológica la disminución de > 1 punto en la F en las biopsias post-tratamiento.

Resultados: 66 pacientes tenían biopsias pre y post-tratamiento (20 respondedores y 46 no respondedores-NRs), incluyendo 38 biopsias de fin de tratamiento (tto), 10 biopsias tras 6 meses de finalizar el tratamiento y 41 tras > 1 año de finalizar el tratamiento. Al comparar la fibrosis registrada entre la biopsia pre-tto y la última biopsia post-tto, se constató estabilización y/o mejoría en el 57.5% casos (75% en RVS vs 50% en NRs, $p = 0,059$). Mientras que no hubo cambios entre la biopsia pre-tto y la de fin de tto, si se evidenció una mejoría significativa en el estadio fibrótico al comparar la biopsia pre-tto con la realizada tras > 1 año de finalizar el tratamiento (11/12, 92% en RVS vs 2/29, 41% en NRs; $p = 0,005$). La supervivencia desde el tratamiento y desde el trasplante (TH) fue significativamente mayor en respondedores vs no respondedores. En pacientes con F0-1 ($n = 50$), la supervivencia desde el TH fue significativamente mayor en RVS (100% a los 3, 5 y 10 años) vs NRs (90%, 76% y 76% a los 3, 5 y 10 años; $p = 0,024$). En pacientes con F3-4 ($n = 64$), hubo diferencias pero no alcanzaron significación estadística, con supervivencia a los 1, 3, 5 y 7 años del 96%, 91%, 85% y 85%, respectivamente en RVS vs 97%, 92%, 75% y 72%, respectivamente en NRs ($p = 0,38$).

Conclusiones: La mejoría en el estadio fibrótico en respondedores sólo se muestra evidente en las biopsias realizadas al menos 1 año tras finalizar el tratamiento. La RVS se asocia con una mejor supervivencia después del trasplante, especialmente en aquellos pacientes que empiezan el tratamiento en las primeras etapas de la fibrosis.



Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



COMUNICACIONES ORALES

XXXVII Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Sesión general 6

Moderadores: Victoria Aguilera (Valencia) y Emilio Fábrega (Santander)

INFLUENCIA DEL ÍNDICE DE MASA CORPORAL EN LA RESPUESTA HEMODINÁMICA A BETABLOQUEANTES EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA E HIPERTENSIÓN PORTAL SEVERA

A. Puente Sánchez^a, C. Aracil^b, I. Graupera García-Mila^{a,c}, A. Colomo^{a,c}, V. Hernández-Gea^a, M. Poca^a, J. Miñana^b, C. Guarner^a y C. Villanueva^a

^aUnidad de Sangrantes. Departamento de Gastroenterología y Hepatología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universidad Autònoma. Barcelona. España.

^bDepartamento de Gastroenterología. Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. España. ^cCIBERehd.

Introducción: La obesidad está asociada a un efecto nocivo sobre la enfermedad hepática crónica, con un mayor riesgo de progresión de la fase compensada de la enfermedad a la fase descompensada. Dicho efecto se ha observado en todas las etiologías de la cirrosis hepática y además en un factor pronóstico independiente de otros factores como GPVH y el grado de disfunción hepática. También se ha demostrado que la obesidad puede tener un papel importante en la integridad vascular hepática. Sin embargo, el hecho de que la obesidad pueda afectar la respuesta hemodinámica al tratamiento de la hipertensión portales un aspecto no aclarado. El objetivo de este estudio es evaluar si el índice de masa corporal (IMC) puede influir en la respuesta hemodinámica a la β -bloqueantes en la cirrosis con hipertensión portal severa.

Métodos: Se incluyeron un total de 256 pacientes cirróticos con varices grandes, con o sin episodio de sangrado digestivo previo por hipertensión portal. Se realizó un estudio hemodinámico basal y se realizaron mediciones antes y 20 minutos después de la administración por vía intravenosa de propranolol (0,15 mg). Los pacientes fueron divididos en cuatro grupos en función de su IMC (infrapeso < 18,5 kg/m², peso normal 18,5-24,9 kg/m², sobrepeso 25-29,9 kg/m² y obesidad > 30 kg/m²). Se compararon los resultados de pacientes con IMC normal frente a sobrepeso y obesidad.

Resultados: Se excluyeron 4 pacientes (1,5%) con infra peso. 85 (33%) tenían un IMC normal, 108 (42%) tenían sobrepeso y 59 (23%) eran obesos. En pacientes obesos la etiología más frecuente de la cirrosis fue la enólica así como la prevalencia de enfermedades asociadas como hipertensión arterial, diabetes o hiperlipemia. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el grado de disfunción hepática (determinada por el MELD y el Child Pugh) y el GPVH basal (gradiente de presión portal) entre los tres grupos. Sin embargo, las presiones cardiopulmonares fueron significativamente mayores en los pacientes obesos que en aquellos con IMC normal (PAP = 25 \pm 8 vs 21 \pm 6 mmHg, p = 0,02; PCp = 18 \pm 6 vs 15 \pm 5 mmHg, p < 0,01) y la proporción de pacientes con hipertensión arterial pulmonar (PAP > 25 mmHg) fue mayor (28% vs 8%, p = 0,002) en los pacientes obesos. Tras el betabloqueo agudo, la respuesta hemodinámica aguda fue menor en función del IMC (14 \pm 11% en IMC normal, 12 \pm 8% en sobrepeso y 9 \pm 9% en obesidad, p = 0,05). Una disminución del GPVH > 10% del valor inicial se logró en el 66% de IMC normal obesos frente al 47% (p = 0,03) y una disminución de HVPH > 20% se logró en el 26% frente al 19%, respectivamente (PNS).

Conclusiones: En la cirrosis con hipertensión portal y varices graves grandes, la obesidad atenúa la respuesta hemodinámica aguda a β -bloqueantes. Además, en estos pacientes, la obesidad se asocia con una mayor proporción de hipertensión pulmonar. Dicho hallazgo puede ser un aspecto a tener en cuenta en el uso crónico de β -bloqueantes como profilaxis primaria y secundaria del sangrado por varices esofágicas.

EL OMEPRAZOL REDUCE LA CAPACIDAD BACTERICIDA DE MONOCITOS Y GRANULOCITOS DE PACIENTES CON CIRROSIS DESCOMPENSADA DE FORMA INDEPENDIENTE AL USO DE NORFLOXACINO

I. García^a, R. Francés^a, P. Zapater^a, J.M. González-Navajas^a, P. Bellot^b y J. Such^{a,b}

^aCIBERehd.

^bUnidad Hepática. Hospital General Universitario de Alicante. España.

Introducción: Las infecciones bacterianas son complicaciones frecuentes en pacientes con cirrosis descompensada. Se ha demos-

	Control IBP- (n = 17)	Control IBP+ (n = 5)	Pacientes IBP- Nfx- (n = 21)	Pacientes IBP+ Nfx- (n = 19)	Pacientes IBP+ Nfx+ (n = 14)
Monocitos					
Fagocitosis (%)	65,3 ± 5,8	68,4 ± 8	75,4 ± 7,6	73,8 ± 16,6	70 ± 16
Actividad fagocítica (MFI)	4.935 ± 1.803	3.371 ± 1.261	5.810 ± 1.560**	6.381 ± 1.878†	6.916 ± 2.103†
Estallido oxidativo (%)	43 ± 11	51,8 ± 13,2	48,6 ± 14,5	51,3 ± 16,4	51,3 ± 17,7
Actividad estallido oxidativo (MFI)	1.969 ± 657	1.340 ± 505	2.635 ± 1.091	1.679 ± 732*	1.685 ± 699*
Granulocitos					
Fagocitosis (%)	97,4 ± 2,8	91,5 ± 8,5	97,9 ± 1,8	97,2 ± 4,5	96,4 ± 6,4
Actividad fagocítica (MFI)	5.383 ± 222	3.384 ± 1.765	6.273 ± 1.595**	6.955 ± 2.201†	7.514 ± 2.249†
Actividad estallido oxidativo (MFI)	2.561 ± 803	1.797 ± 675	3.879 ± 2.081	2.640 ± 1.011*	2.489 ± 892*

*p < 0,05 comparado con el grupo Pacientes IBP- Nfx-. **p < 0,05 comparado con el grupo Control IBP-. †p < 0,05 comparado con el grupo Control IBP+. MFI: intensidad de fluorescencia media.

trado que el omeprazol reduce la capacidad bactericida de los neutrófilos, lo que probablemente está en relación con la asociación entre su uso y el desarrollo de episodios de PBE en pacientes con cirrosis y ascitis.

Objetivos: Estudiar la capacidad funcional bactericida de neutrófilos y monocitos de sangre periférica de pacientes con cirrosis descompensada en función del uso previo de antiseptores y su relación con el uso de norfloxacin.

Métodos: Se incluyeron 56 pacientes con cirrosis y ascitis y 17 sujetos control. Se evaluó la capacidad fagocítica y el estallido respiratorio en monocitos y granulocitos mediante citometría de flujo, empleando los kits comerciales PhagoTest y BursTest, respectivamente.

Resultados: Los controles fueron distribuidos en dos grupos según el uso de IBPs (Grupo control IBP+, n = 5; Grupo control IBP-, n = 12) y los pacientes fueron distribuidos en tres grupos dependiendo del uso de IBPs y de norfloxacin en el momento de inclusión en el estudio (Grupo IBP+Nfx-, n = 19; Grupo IBP-Nfx-, n = 21; Grupo IBP+Nfx+, n = 15). Los resultados se muestran en la tabla. Los pacientes muestran una mayor actividad fagocítica que los controles, con independencia de la toma de IBPs. Existe un descenso significativo de la actividad de estallido oxidativo (capacidad bactericida) de monocitos y granulocitos en los pacientes que toman IBPs, independientemente de la toma de norfloxacin.

Conclusiones: La administración de IBPs en pacientes con cirrosis descompensada está asociada a un descenso significativo de la capacidad bactericida de monocitos y granulocitos en sangre. Esta disminución no se ve afectada al tomar norfloxacin, lo cual deja patente el efecto del IBP en estos pacientes. Estos resultados apoyan la hipótesis de una relación patogénica entre el uso de antiseptores y la predisposición al desarrollo de infecciones en estos pacientes.

ENSAYO CLÍNICO EN FASE II DE TREMELIMUMAB (ANTICUERPO MONOCLONAL BLOQUEANTE DE CTLA-4) EN PACIENTES CON HEPATOCARCINOMA (HCC) E INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC): RESULTADOS PRELIMINARES

B. Sangro^{a,b}, C. Gómez-Martín^c, M. de la Mata^{d,e}, M. Iñárraigui^{a,b}, E. Garralda^c, P. Barrera^{d,e}, J.I. Riezu-Boj^f, E. Larrea^f, P. Sarobe^f, J. Lasarte^f, J.L. Pérez Gracia^b, I. Melero^f y J. Prieto^{a,b,f}

^aCIBERhd.

^bUnidad de Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^cOncología Médica. Hospital 12 de Octubre. Madrid. España.

^dHepatología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. España.

^eIMIBIC.

^fÁrea de Hepatología y Terapia Génica. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona. España.

Introducción: Tremelimumab es un anticuerpo monoclonal humanizado cuya unión a CTLA4 expresado en la superficie de los linfocitos T activados bloquea la inhibición de la activación de estas células mediada por la unión de CTLA4 a las moléculas de coestímulo B7.

Objetivos: Estudiar la actividad antitumoral y antiviral y la seguridad de tremelimumab en pacientes con HCC e infección crónica por VHC. El objetivo primario fue la respuesta tumoral valorada por criterios RECIST cada 3 meses. Objetivos secundarios fueron la seguridad, el tiempo a progresión y supervivencia global, y la respuesta viral e inmunológica.

Métodos: En un estudio multicéntrico, no controlado en fase II, pacientes con HCC irresecable avanzados o en progresión a terapias intraarteriales o sorafenib recibieron una dosis de tremelimumab IV de 15 mg/kg cada 90 días hasta progresión, toxicidad o un máximo de 4 dosis.

Resultados: Se reclutaron 21 pacientes (población por intención de tratar) con HCC en estadios avanzados (edad media 68 años, 71% varones, 57% BCLC C, 43% Child B, 28% con invasión portal, 28% con AFP > 400 UI/ml), de los cuales se trataron 20 (población de seguridad) y se evaluaron para respuesta 17 (población de eficacia). Tras una mediana de 2 ciclos (rango 1-4), el 12% de los pacientes tuvo una respuesta parcial y el 65% una estabilización (tasa de control de enfermedad: 76,4%). La duración de la estabilización fue de al menos 6 meses en el 45% de los casos. Por intención de tratar, el tiempo a progresión y la supervivencia global fueron de 6,4 m (IC95% 3,9-9,1) y 7,5 m (IC95% 4,6-18,0), respectivamente. La tolerancia fue muy buena siendo los acontecimientos adversos más frecuentes potencialmente relacionados con el tratamiento el rash pruriginoso (45%) y la elevación de transaminasas (30%). Otros acontecimientos adversos conocidos de tremelimumab fueron menos frecuentes de lo esperado diarrea (10%), artralgias e hipotiroidismo (5%). No se observó ningún caso de hipofisitis. En cuanto a la respuesta viral se observó un descenso progresivo y significativo en la carga viral (mediana: basal 3,78 × 10⁵ copias/ml vs día 120 3,02 × 10⁴ copias/ml, p = 0,02; vs día 210 1,69 × 10³ copias/ml, p = 0,04), que se asoció a un incremento de la respuesta inmune frente a antígenos virales medida por Elispot en el 76% de los pacientes.

Conclusiones: Los resultados indican que la tolerancia a tremelimumab es buena en pacientes cirróticos incluso con discreta insuficiencia hepática y que posee actividad antiviral frente al VHC; y sugieren que puede ser eficaz frente al HCC, lo que justifica nuevos ensayos clínicos en ambas entidades.

INFLUENCIA DEL GENOTIPO IL28B EN LA EFICACIA DEL RETRATAMIENTO CON PEGIFN ALFA-2A Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS C Y FALLO A UN TRATAMIENTO PREVIO (ESTUDIO ÁGORA): RESULTADOS EN SEMANA 12

R. Solà^a, M. Diago^b, J. Crespo^c, B. Dalmau^d, R.M. Morillas^e, D. Suárez^f, L. Bonet^g, S. Montoliu^h, F.X. Cervantesⁱ, R. Planas^e, J. García-Samaniego^j, M. Romero-Gómez^k y J.L. Calleja^l, en representación de los investigadores del Estudio Ágora

^aHospital del Mar. IMIM. Barcelona. España.

^bHospital General de Valencia. España.

^cHospital Marqués de Valdecilla. Santander. España.

^dHospital Parc Taulí de Sabadell. Barcelona. España.

^eHospital Germans Trias i Pujol. CIBERehd. Badalona. Barcelona. España.

^fHospital Arquitecto Marcide. Ferrol. A Coruña. España.

^gHospital Son Dureta. Palma de Mallorca. Baleares. España.

^hHospital Joan XXIII. Tarragona. España.

ⁱXarxa Sanitària i Social de Santa Tecla. Tarragona. España.

^jHospital Carlos III. CIBERehd. Madrid. España.

^kHospital Nuestra Señora de Valme. CIBERehd. Sevilla. España.

^lHospital Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid. España.

Introducción: Existen pocos datos sobre la distribución de las variantes del genotipo IL28B en poblaciones de pacientes sin respuesta al tratamiento antivírico.

Objetivos: Evaluar la prevalencia de las variantes del genotipo IL28B en pacientes con hepatitis C (HC-VHC) y fallo a un régimen de interferón estándar o pegilado y ribavirina (RBV) y su influencia en la eficacia del re-tratamiento.

Métodos: Estudio prospectivo, multicéntrico que incluyó 286 pacientes con HC-VHC sin respuesta a un tratamiento previo en el que se determinaron los polimorfismos de IL28B (rs12979860). Se analizaron los motivos del fallo con los criterios ÁGORA (Gastroenterol Hepatol. 2011;34:168) para decidir el re-tratamiento. No se planteó el re-tratamiento en 105 pacientes mientras que 181 completaron las primeras 12 semanas de re-tratamiento con PegIFN alfa-2a y RBV aplicando medidas para corregir el fallo. Se analizó el perfil genético de los pacientes, así como las tasas de RVR (ARN VHC negativo en s4), RVP (disminución de 2 log ARN VHC en s12) y RVPc (ARN VHC negativo en s12).

Resultados: La distribución de las variantes en los pacientes incluidos (edad: 50 años; genotipo 1: 80,3%; fibrosis 3/4: 24,7%) fue CC: 68 (23,8%), CT: 180 (62,9%) y TT: 38 (13,3%). La mayoría de los pacientes no repondedores (NR) presentaron variantes CT/TT (85,4%) en comparación con los pacientes recidivantes (RECID) (68,1%) y los que presentaron breakthrough (BKT) (72,2%) (p 0,007). Dichas diferencias se mantuvieron usando los criterios ÁGORA (falta de adherencia: 50%, dosis incompletas: 73,6%, negativización tardía: 73,6%, ausencia de respuesta: 89,6%). No se observaron diferencias en la distribución de las variantes entre los pacientes en que se decidió iniciar o no el re-tratamiento (CC: 25,4 y 20,9%). Los tratados con la variante CC presentaron con mayor frecuencia RVR, RVP y RVPc (48,1%, 91,3% y 78,3%,) en comparación con los CT/TT (20,8%, 74,8% y 39,3%; p 0,003; 0,02 y 0,0001). En el subgrupo de NR la tasa de RVPc en CC y CT/TT fue del 55,6 y 14,3% (p 0,004) mientras que en los RECID fue del 87,9 y 58,8% (p 0,003). El 97,2% de pacientes CC y RVPc realizaron el tratamiento previo de forma subóptima.

Conclusiones: La distribución de las variantes de la IL28B en pacientes con fallo a un tratamiento previo es similar a la descrita en pacientes no tratados excepto en el grupo de pacientes NR. La mayoría de los pacientes con buen perfil genético (CC) realizaron el tratamiento previo de forma subóptima consiguiendo una tasa de RVP completa superior al 75% en el re-tratamiento. Dicha tasa en pacientes NR con variante CC fue del 55,6%.

EFFECTO PROTECTOR DE LA BILIVERDINA FRENTE A LA TOXICIDAD INDUCIDA POR ÁCIDOS BILIARES EN CÉLULAS HEPÁTICAS

M.E. González Sánchez^a, M.J. Pérez García^{a,b,c,d}, O. Briz Sánchez^{a,b,d}, M.A. Serrano García^{a,b}, M.J. Monte Río^{a,b} y J.J. García Marín^{a,b}

^aLaboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Universidad de Salamanca. España.

^bCentro de Investigación Biomédica en Red de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd).

^cInstituto de Estudios de Ciencias de la Salud de Castilla y León. España.

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

Introducción: Durante los episodios de colestasis se acumulan en los hepatocitos ácidos biliares, algunos de ellos, como el ácido desoxicólico (ADC), son más hidrofóbicos y pueden inducir estrés oxidativo en parte debido a su acción sobre las mitocondrias. Como mecanismo de defensa se activan sistemas antioxidantes incluyendo la biliverdina (BV) reductasa a (BVRa) que juega un papel clave en el ciclo antioxidante BV/bilirrubina (BR). En un trabajo previo nuestro grupo describió una mutación (c.214C > A) en el exón 3 del gen que codifica la BVRa (BLVRA) que genera un codón stop. Los pacientes homocigóticos para esta mutación presentan cuadros de hiperbiliverdinemia en lugar de hiperbilirrubinemia durante las crisis de colestasis. Aunque la BR puede ejercer un efecto antioxidante su relevancia fisiológica se perdería al bloquearse el ciclo mediado por la BVRa.

Objetivos: Determinar el efecto directo de la BV sobre el estrés oxidativo causado por la acumulación de ácidos biliares hidrofóbicos en células hepáticas.

Métodos y resultados: La ORF del gen BVRa se clonó en vectores apropiados para su expresión en células humanas y oocitos de *Xenopus laevis*. Mediante mutagénesis dirigida se reprodujo la mutación c.214C > A que habíamos encontrado en pacientes con crisis de hiperbiliverdinemia. En las células transfectadas, se comprobó que este cambio daba lugar a una proteína truncada. La secuencia mutada se expresó en oocitos y se determinó por HPLC-MS/MS la capacidad de convertir BV en BR. Su actividad resultó ser nula. Tras el tratamiento de células hepáticas con ADC o K2Cr2O7, se determinó la viabilidad celular y la producción de ROS mediante citometría de flujo usando iodo de propidio y diclorofluoresceína diacetato, respectivamente. Los estudios de expresión se realizaron por RT-PCR, WB e IF. Cuando se analizaron tres líneas celulares hepáticas humanas se encontraron niveles basales de expresión de BVRa diferentes (HepG2 > PLC/PRF/5 > Huh-7). Estas tres líneas celulares también presentaron distintos niveles basales de generación de ROS (Huh-7 > PLC/PRF/5 > HepG2). El tratamiento con concentraciones crecientes de K2Cr2O7 o ADC aumentó la producción de ROS y la muerte celular. Ambos efectos se inhibían en presencia de BV. El efecto protector era proporcional a la dosis de BV utilizada. La expresión de BVRa y hemo oxigenasa-1 no se modificó en presencia de BV, pero aumentó en respuesta al ADC y se redujo tras la exposición a K2Cr2O7.

Conclusiones: La BV reduce el estrés oxidativo y la muerte celular inducidos por el ADC así como por el compuesto xenobiótico K2Cr2O7, probablemente mediante su transformación a BR. Estos resultados sugieren que la BV podría tener un efecto protector dependiente de la actividad BVRa, lo que podría ser relevante en hepatopatías asociadas al estrés oxidativo y con aumento de los niveles de BR, como la colestasis. La presencia de mutaciones inactivantes, como c.214C > A, anularía este efecto protector en sujetos portadores homocigóticos.

IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES SÉRICOS CIRCULANTES ESPECÍFICOS DE FIBROGENESIS HEPÁTICA EN PACIENTES HEPATÓPATAS MEDIANTE TÉCNICAS DE PROTEÓMICA DE ALTO RENDIMIENTO

S. Marfá^a, G. Casals^a, G. Fernández-Varo^a, G. Crespo^b, Z. Mariño^b, L. Mensa^b, X. Forns^b, M. Morales-Ruiz^a, M. Navasa^b y W. Jiménez^{a,c}

^aServicio de Bioquímica y Genética Molecular. IDIBAPS. CIBERhd. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^bUnidad de Hepatología. Hospital Clínic. CIBERhd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. España.

^cDepartamento de Ciencias Fisiológicas I. Universidad de Barcelona. España.

Introducción: Los pacientes hepatópatas están sometidos a un proceso inflamatorio y fibrogénico persistente que al cabo de largos periodos de tiempo da lugar a cirrosis e insuficiencia hepática. Hasta ahora, la biopsia hepática y diversos indicadores clínicos y serológicos se han utilizado para establecer el estadio de la fibrosis en estos pacientes. Sin embargo, estos métodos pueden resultar excesivamente agresivos y presentar un grado notable de incertidumbre diagnóstica. Por tanto, identificar de forma precoz biomarcadores sensibles y específicos de actividad fibrogénica es una necesidad diagnóstica de primer orden. Los pacientes con trasplante hepático (TOH) infectados por el virus de la hepatitis C (VHC) pueden presentar un desarrollo muy acelerado de fibrosis en el injerto tras el trasplante y, por tanto, constituyen una población idónea para la identificación de biomarcadores relacionados con la activación del proceso fibrogénico.

Objetivos: Identificar precozmente biomarcadores circulantes específicos de fibrogenesis hepática en pacientes hepatópatas mediante técnicas de proteómica de alto rendimiento.

Métodos: El estudio de definición se realizó en muestras séricas de 10 pacientes infectados con VHC, 6 meses después de ser trasplantados y que presentaron fibrosis leve (n = 5) o grave (n = 5) un año después del TOH. También se incluyeron 5 pacientes trasplantados VHC negativo, que no presentaron fibrosis al año del TOH. El estudio de validación se realizó en suero de 107 individuos obtenido 6 meses después de TOH y que presentaron grados variables de fibrosis al año del trasplante. Las muestras se fraccionaron y se aplicaron a una superficie cromatográfica de retención activa para ser analizadas mediante SELDI-TOF/MS (Surface-Enhanced Laser Desorption Ionization Time-of-Flight).

Resultados: El análisis de los espectros proteicos del grupo de definición reveló la presencia de 61 proteínas asociadas a la progresión de fibrosis. Entre ellas, mediante análisis estadístico específico (Biomarker Pattern Software), se identificó el pico del espectro proteico de 5874 Da como el de mayor poder discriminativo de actividad fibrogénica. Niveles muy reducidos o inexistentes de esta proteína se asociaron, con una sensibilidad y especificidad del 100%, a la existencia de un proceso de fibrogenesis activa. En el grupo de validación, la ausencia o expresión muy disminuida de esta proteína identifica precozmente, con una sensibilidad del 98%, y una especificidad del 89%, los pacientes con actividad fibrogénica.

Conclusiones: El análisis de perfiles proteicos en suero mediante el sistema SELDI-TOF/MS ha permitido la identificación de una proteína de 5874 Da cuya ausencia o expresión muy reducida permite diferenciar precozmente de forma altamente sensible y específica los pacientes que presentan un proceso de fibrogenesis activa. La completa caracterización de dicha proteína permitirá definir con precisión su significado clínico y utilidad diagnóstica.

PERFILES METABÓLICOS DEPENDIENTES DE LA OBESIDAD ASOCIADOS A LA PROGRESIÓN DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO

J. Barr^a, J. Caballería^b, I. Martínez-Arranz^a, A. Domínguez-Díez^c, J. Muntané^d, M. Pérez-Cormenzana^a, C. García-Monzón^e, R. Mayo^a, A. Martín-Duce^f, M. Romero-Gómez^g, O. Lo Iacono^h, K. Clémentⁱ, R. Andrade^j, M. Pérez-Carreras^k, P. Gual^l, C. Fernández-Escalante^c, E. Arévalo^d, M.T. García-Unzueta^c, J. Tordjman^l, J. Crespo^c, Y. Le Marchand Brustel^l, M. Gómez Fleitas^c, M.L. Martínez-Chantar^m, A. Castro^a, S. Luⁿ, C. Alonso^a, M. Vázquez^a y J.M. Mato^m

^aOWL Genomics. Derio. Vizcaya. España.

^bUnidad de Hepatología. Hospital Clínic. CIBERhd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. España.

^cHospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

^dHepatología. CIBERhd. Hospital Reina Sofía. Córdoba. España.

^eHospital Universitario Santa Cristina. CIBERhd. Madrid. España.

^fHospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. España.

^gUnidad de Gestión Clínica Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. CIBERhd. Sevilla. España.

^hSección de Aparato Digestivo. Hospital del Tajo. Aranjuez. Madrid. España.

ⁱINSERM. University Pierre et Marie Curie. Paris. Francia.

^jHospital Universitario Virgen de la Victoria. CIBERhd. Málaga. España.

^kHospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. España.

^lINSERM. University of Nice. Niza. Francia.

^mCICbioGUNE. CIBERhd. Derio. Vizcaya. España.

ⁿUSC Research Center for Liver Diseases. University Southern California. Los Angeles. EE.UU.

El aumento de la prevalencia del hígado graso no alcohólico (HGNA) y las evidencias de que es un cuadro que puede progresar dando lugar a cambios inflamatorios, fibrosis y cirrosis han favorecido el desarrollo de métodos diagnósticos y pronósticos no invasivos. Para ello se han utilizado índices clínico-analíticos, técnicas radiológicas y las nuevas herramientas “ómicas”. Estudios previos de nuestro grupo han permitido desarrollar un método diagnóstico basado en la metabolómica capaz de diferenciar la esteatosis simple (E) de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). El objetivo del presente estudio ha sido investigar la influencia de uno de los factores claves en el desarrollo de HGNA como la obesidad, en un grupo amplio y bien caracterizado de pacientes, diagnosticados por biopsia. Se han incluido 467 pacientes, clasificados histológicamente en hígado normal (N, n = 90) o en HGNA: esteatosis simple (E, n = 246) o esteatohepatitis (EH, n = 131), divididos de manera aleatoria en una cohorte de estudio (80% de los pacientes) y una cohorte de validación (20% de los pacientes). En una muestra de suero de todos los pacientes se determinaron de manera semicuantitativa los niveles de 430 lípidos y 20 aminoácidos mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrofotometría de masas (UPLC-MS). Se observó una clara dependencia entre el perfil metabólico de cada uno de los tres grupos de pacientes y el índice de masa corporal, lo que sugiere la existencia de mecanismos patogénicos distintos en los pacientes con HGNA según tengan un índice de masa corporal normal o sean obesos. A continuación se efectuó un análisis multivariado estratificado de acuerdo con el IMC del perfil metabólico de los pacientes con HGNA para diferenciar a los pacientes con o sin EH. El área bajo la curva fue de 0,85 en la cohorte de estimación y de 0,81 en la cohorte de validación. La máxima eficacia diagnóstica (0,83) se obtuvo en el punto de corte de 0,52 con una sensibilidad del 68% y una especificidad del 93% (valores predictivos negativos y positivos 85% y 79%, respectivamente). Los resultados del estudio indican que en el HGNA existe un perfil metabólico dependiente del IMC capaz de diferenciar la esteatohepatitis de la esteatosis, lo que puede tener importantes implicaciones en el desarrollo de nuevos biomarcadores y de potenciales dianas terapéuticas.