

Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



PÓSTERS

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

Madrid, 15-17 de febrero de 2012

Moderadores: María Varela (Oviedo), Javier Bustamante (Bilbao) y Beatriz Mínguez (Barcelona)

Carcinoma hepatocelular

P-1. COLESTEROL MITOCONDRIAL Y CARDIOLIPINA PEROXIDADA DETERMINAN LA SUSCEPTIBILIDAD DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR A LA HIPOXIA Y AL CRECIMIENTO TUMORAL IN VIVO

N. Matías^a, J. Montero^a, M. Stefanovic^a, A. Morales^a, J. Prieto^b, G. Basáñez^c, A. Colell^a, C. García-Ruiz^a y J.C. Fernández-Checa^a

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

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

^cUnidad de Biofísica. UPV. CSIC. España.

Introducción: La acumulación de colesterol mitocondrial es una característica y factor determinante de la esteatohepatitis (EH) debido a la disminución del GSH mitocondrial (GSHm) por un funcionamiento inadecuado del transportador del 2-oxoglutarato (2OG). Durante la evolución de EH a etapas más avanzadas de la enfermedad como el carcinoma hepatocelular (CHC) también se observa un incremento del Colm. Puesto que el GSHm regula el estado de oxidación de cardiolipina (CLOOH) la cual controla la susceptibilidad a estímulos apoptóticos como Bax, hipoxia y especies reactivas de oxígeno (ROS), el objetivo de este estudio fue examinar la relación entre Colm y GSHm en la susceptibilidad de células CHC a hipoxia in vitro y crecimiento tumoral in vivo.

Métodos: Análisis de colesterol, GSHm y expresión de 2OG en células CHC HepG2, Hep3B y H35. Respuesta de las líneas celulares CHC al silenciamiento de 2OG con siRNAs y exposición a la hipoxia (1%O₂) con análisis de la supervivencia celular y estado de CL/CLOOH. Análisis del crecimiento tumoral in vivo en ratones nude inoculados con Hep3B transfectadas establemente con siRNA contra 2OG (Hep3B-2OG).

Resultados: Mientras que en etapas iniciales de EH, en mitocondria el colesterol previene el transporte de GSH, las mitocondrias

de HepG2, Hep3B o H35 mantienen la capacidad de transportar GSHm a pesar de un notable incremento de colesterol lo que se traduce en la presencia de cardiolipina en estado reducido (CL). Este efecto paradójico es debido a la sobreexpresión del nivel de transportador mitocondrial 2OG, responsable del mantenimiento del GSHm, tanto en células HepG2 y H35 como en muestras de pacientes con CHC. Además, el silenciamiento de 2OG mediante siRNA da lugar a una disminución del GSHm (50-60%), sensibilizando a las células CHC a la hipoxia debido a la sobreproducción de ROS, provocando un incremento en la formación de CLOOH resultando en la liberación de citocromo C y muerte hepatocelular por apoptosis. La inoculación de ratones atímicos con Hep3B-2OG resulta en una menor tasa de vascularización y angiogénesis (tinción positiva para CD34) y menor crecimiento tumoral in vivo comparado con la inoculación con Hep3B. Utilizando liposomas de composición definida (LUV), observamos que la presencia de CLOOH en su composición revierte la resistencia del colesterol a la permeabilización de los LUVs por Bax.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que la relación colesterol y CLOOH actúan como un nuevo reostato lipídico regulando la permeabilización de la membrana mitocondrial a estímulos apoptóticos. La habilidad de las CHC para mantener los niveles de GSHm a pesar de los niveles elevados de colesterol mitocondrial está mediada por la sobreexpresión de 2OG, emergiendo dicho transportador como una nueva diana terapéutica para el CHC.

P-2. LA ECOGRAFÍA CON CONTRASTE POSEE UNA SENSIBILIDAD LIMITADA PARA DESCARTAR EL DIAGNÓSTICO DE CARCINOMA HEPATOCELULAR EN NÓDULOS < 2 CM EN PACIENTES AFECTOS DE CIRROSIS HEPÁTICA

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

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

^bUnidad de Oncología Hepática (BCLC). Servicio de Hepatología;

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

^dServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic de Barcelona. España.

Introducción: La ecografía con contraste (CEUS) es una técnica dinámica escasamente invasiva de utilidad para la caracterización inicial de nódulos hepáticos. Algunos autores han sugerido que si la CEUS no detecta hipervascularización arterial en un nódulo hepático en un paciente con cirrosis, no sería necesario establecer el protocolo diagnóstico por sospecha de posible carcinoma hepatocelular.

Objetivos: Evaluar de forma prospectiva la capacidad de la CEUS para descartar el diagnóstico de CHC de acuerdo a la ausencia de captación de contraste en nódulos únicos de 5-20 mm detectados durante una ecografía de cribado.

Métodos: Entre noviembre de 2003 a abril 2011 incluimos prospectivamente pacientes cirróticos con nódulos únicos de nueva aparición de 5-20 mm detectados mediante ecografía de cribado. Se realizó RM, CEUS y PAAF (patrón de oro) en todos los pacientes. En aquellos nódulos sin diagnóstico se realizó seguimiento mediante CEUS/3m y RM/6m hasta asegurar la ausencia de CHC. Se registró el aspecto ecográfico basal, presencia de halo y las características en cada fase del estudio con contraste, con especial énfasis en la ausencia de captación en fase arterial.

Resultados: 168 pacientes fueron incluidos en el análisis (edad 65 años, 73% VHC+, 88% Child-Pugh A). El diagnóstico final fue: CHC (n = 118), colangiocarcinoma intrahepático (n = 3), tumor neuroendocrino (n = 1) y lesiones benignas (n = 47). Estas últimas fueron seguidas una mediana de 52 meses para asegurar su benignidad. El tamaño medio fue 15 mm (5-10 mm = 19, 10-15 mm = 77 y 16-20 mm = 72) y fue significativamente mayor en aquellos nódulos finalmente diagnosticados de CHC (15,2 mm vs 12,7 mm). 99 nódulos (59%) fueron hipoeoicos y 55 (33%) presentaron halo. En 5 pacientes la CEUS no fue valorable por localización de la lesión y en 57 casos (34%), la CEUS no fue capaz de identificar captación de contraste. 18 de estos 57 nódulos fueron diagnosticados de CHC (31,6% de los nódulos sin captación de contraste, 15% del total de CHC). No hubieron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de los CHC de acuerdo a la presencia o ausencia de captación de contraste en fase arterial (15,5 cm vs 14,1 cm, respectivamente).

Conclusiones: La ausencia de captación de contraste en fase arterial mediante CEUS no descarta el diagnóstico de CHC. Por tanto, demorar las exploraciones diagnósticas para esta entidad por falta de captación no puede constituir una recomendación clínica.

P-3. ANÁLISIS DE LA VELOCIDAD DE PROGRESIÓN TUMORAL Y SU CORRELACIÓN CON LA SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR TRATADOS CON SORAFENIB. IMPACTO EN EL DISEÑO DE ESTUDIOS EN SEGUNDA LÍNEA

M. Reig^{a,b}, J. Rimola^{a,c}, A. Darnell^c, C. Rodríguez de Lope^b, N. Llarch^b, A. Forner^{a,b}, C. Ayuso^{a,c} y J. Bruix^{a,b}

^aCIBERehd.

^bUnidad de Oncología Hepática (BCLC); ^cServicio de Radiología (BCLC). Servicio de Hepatología. IDIBAPS. Hospital Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona. España.

Introducción: La eficacia del sorafenib en pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) se consigue a través de una demora en la progresión tumoral. La evaluación de agentes para segunda línea se inicia en el momento que se detecta progresión por lo que es necesario disponer de datos que establezcan si la dinámica de progresión tumoral se correlaciona con la supervivencia, si el tiempo a primera progresión puede predecir el tiempo a segunda progresión

y cuál es la supervivencia post-primera y segunda progresión. Estos datos son fundamentales en práctica clínica, y para diseñar y analizar los estudios en segunda línea.

Objetivos: Analizar el tiempo a progresión y la supervivencia de una cohorte prospectiva de pacientes con CHC tratados con sorafenib.

Métodos: Entre octubre 2007 y julio 2011 se han incluido 147 pacientes (97% cirróticos, 46% HCV+, edad media 64 años [49-78], 82,3% Child-Pugh A, PS 0 = 84%, BCLC-B 78 y BCLC-CC 69. El tratamiento se aplicó al igual que en el estudio SHARP: hasta progresión sintomática o intolerancia. La respuesta al tratamiento y el tiempo a progresión se analizaron mediante RECIST efectuando controles cada 2 meses. Todos los pacientes tienen un seguimiento mínimo de 6 meses o han desarrollado progresión radiológica o sintomática.

Resultados: La mediana de tratamiento de la cohorte total fue 6,4 meses (0,26-42,9) y la supervivencia mediana de 14,8 meses (10,6-19,1), siendo 17,2 meses en BCLC B y 13,8 en BCLC C. En 10 pacientes no se pudo evaluar la respuesta/progresión por interrupción precoz del tratamiento debida a toxicidad. La mediana de tiempo a progresión (TTP) fue 5,9 meses (IC95%: 4,8 a 7,0). No existieron diferencias basales entre progresores rápidos (antes de mediana TTP) o lentos (más allá de mediana), excepto en performance status que se hallaba más frecuentemente (0,043) afectado en los progresores rápidos. La mediana de supervivencia de los progresores rápidos fue inferior a la de los progresores lentos (11,7 meses vs 26,4, p = 0,0001). La mediana de tiempo a segunda progresión manteniendo sorafenib (n = 84) fue 2,0 meses y no fue diferente en función de la rapidez de primera progresión (1,9 vs 2,0 meses) o de estadio BCLC basal (B 2,0 vs C 1,8 meses). La mediana de supervivencia post-primera progresión fue de 9,1 meses y no se puede predecir por el tiempo a segunda progresión. Por último, la mediana de supervivencia post-segunda progresión fue de 6,8 meses.

Conclusiones: Estos datos validan la supervivencia observada en el estudio SHARP en el contexto clínico convencional y demuestran que el tiempo a primera progresión registrado mediante RECIST se correlaciona con la supervivencia de los pacientes. Por tanto, este parámetro debe considerarse en el diseño de estudios de segunda línea independientemente de que la velocidad de progresión inicial no se mantenga estable y de que el tiempo a segunda progresión no se correlacione con la supervivencia.

P-4. TERAPIA GÉNICA PARA SUPERAR LA RESISTENCIA DEL HEPATOCARCINOMA A LA QUIMIOTERAPIA ANTITUMORAL BASADA EN LA VECTORIZACIÓN DE FÁRMACOS Y EL AUMENTO DE EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR OATP1B1

O. Briz Sánchez^{a,b,c}, E. Herráez Aguilar^{a,c}, L. Sánchez Vicente^{a,c}, A. García Blázquez^{a,c} y J.J. García Marín^{a,c}

^aCIBERehd.

^bHospital Universitario de Salamanca. España.

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

Introducción: El aumento de expresión de bombas exportadoras de la familia ABC es uno de los mecanismos que limita el éxito de la quimioterapia antitumoral. La proteína asociada a la resistencia a múltiples fármacos MRP2 (gen ABCC2), localizada en la membrana canalicular de los hepatocitos, juega un papel determinante en la secreción biliar de bilirrubina en condiciones fisiológicas, mientras que en tumores un aumento de su expresión causa resistencia a múltiples fármacos, como el cisplatino. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de una estrategia de terapia génica para superar la quimiorresistencia basada en la introducción en las células tumorales de un ADN quimérico que contenga la secuencia codi-

ficante (ORF) del transportador de fármacos OATP1B1 precedida del promotor de MRP2, cuya actividad está aumentada en muchas células tumorales.

Métodos y resultados: El promotor de MRP2 (prMRP2) completo o parcial se clonó en plásmidos que contenían la ORF de luciferasa, para medir la activación del promotor mediante cambios de expresión de luciferasa por luminometría. Los plásmidos se transfectaron en células Alexander de hepatoma humano. Como control positivo se indujo la estimulación del prMRP2 por dexametasona. La respuesta fue máxima a una concentración de 100 nM. Sorprendentemente, se observó que el cisplatino era capaz de activar prMRP2 de forma dependiente de la región de prMRP2 conservada. La quimera que contenía un fragmento de 873 pb del prMRP2 era la que presentaba mayor actividad y respuesta a dexametasona y cisplatino. Por ello, se construyó un plásmido que contenía esta región del prMRP2 seguida de la ORF del OATP1B1. La transfección de células Alexander con esta quimera indujo un aumento de 20 veces en la expresión de OATP1B1, determinado por RT-PCR cuantitativa y Western blot, que fue máximo a los 2 días tras la transfección. El tratamiento con dexametasona aumentó aún más los niveles de OATP1B1. El OATP1B1 etiquetado con V5 se localizó mediante inmunofluorescencia en la membrana plasmática de las células Alexander. En células transfectadas con prMRP2-OATP1B1 se observó un mayor efecto citostático para compuestos que son sustratos del OATP1B1 como el paclitaxel, metotrexato y los conjugados de cisplatino y ácidos biliares Bamet-R2 y Bamet-UD2. La inducción del prMRP2 por dexametasona aumentó al doble dicho efecto. Sin embargo, estas maniobras no afectaron a la sensibilidad de las células tumorales a fármacos que no son captados por el transportador OATP1B1, como es el caso del cisplatino.

Conclusiones: La introducción en las células tumorales de un ADN quimérico que contenga la ORF de proteínas de captación de fármacos citostáticos, como el OATP1B1, bajo el control del promotor de una proteína de resistencia, como la MRP2, puede aumentar la captación de los agentes antitumorales y, por lo tanto, constituir una interesante estrategia para superar la quimiorresistencia propia de tumores hepatocelulares.

P-5. EL TRATAMIENTO CON METFORMINA DISMINUYE EL RIESGO DE HEPATOCARCINOMA EN PACIENTES CON CIRROSIS C: ESTUDIO OBSERVACIONAL RETROSPECTIVO DE DOS COHORTES

J. Ampuero^a, M. Fernández Gil^b, D. Núñez^a, S. Alonso^b, M. Maraver^a, M.L. Gutiérrez^b, C. Cano^a, A. Rojas^a, J.L. Lledó^b, M. Millán^a, R. Gallego-Durán^a, I. Camacho^a, B. Figueruela^a, E. Suárez^a, C. Fernández-Rodríguez^b y M. Romero-Gómez^a

^aUnidad de Gestión Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas. Hospital de Valme. Sevilla. España.

^bUnidad de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid. España.

Objetivos: Estudios recientes indican que el uso de sensibilizadores de insulina, como la metformina, podría asociarse a una disminución en la incidencia de HCC (Nkontchou et al. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:2601-8). Por ello, evaluamos la utilidad de metformina en la reducción de HCC en una cohorte de estimación (H.U. de Valme) y una cohorte de validación (H.U. de Alcorcón).

Métodos: Incluimos en la cohorte de estimación 198 pacientes, 74 con cirrosis C, y en la cohorte de validación 160 pacientes, 74 con cirrosis C. La distribución por sexo (hombres 71% vs 65%, edad 57 + 11 vs 63 + 12 años y función hepática Child: 6,0 + 1,5 vs 5,9 + 1,2 fueron comparables. Los pacientes se clasificaron como tratados con sensibilizadores de insulina (metformina con o sin pioglitazona) (46/198 -23,2%- vs 14/160 -8,8%); cirróticos con diabetes mellitus tipo 2, tratados con insulina (25/198 -12,6%- vs 11/160

-6,9%); diabéticos en tratamiento dietético (12/198 -6,1%- vs 18/160 -11,3%); y no diabéticos (114/198 -57,6%- vs 117/160 -73,1%). Las características basales incluyeron: insulina, glucosa, y HOMA-IR. El end-point primario fue la presencia de HCC. Para el análisis univariante empleamos el método Kaplan Meier y para el análisis multivariante la regresión de Cox y regresión logística.

Resultados: En cohorte de estimación desarrollaron HCC el 10,6% (21/198): 4,4% (2/45) en tratados con metformina, 20% (5/25) en tratados con insulina, 16,7% (2/12) en diabéticos con dieta y 10,5% (12/114) en no diabéticos. En la cohorte de pacientes con cirrosis C (n = 74) el uso de metformina se asoció con el riesgo disminuido de HCC (Log Rank 8,42; p = 0,038), ya que ningún paciente desarrolló HCC (0/20), mientras que detectamos HCC en un 43% (3/7) de los pacientes tratados con insulina, un 40% (2/5) de diabéticos con dieta y un 15% (6/41) de los no diabéticos. Los pacientes tratados con metformina mostraban una ligera mejor función hepática que los no tratados. Por ello, seleccionamos pacientes en estadio A de Child-Pugh y en análisis multivariante, las variables independientes asociadas a riesgo de desarrollar HCC fueron el uso de metformina [HR 0,07 (IC95%: 0,01-0,83); p = 0,035] y HOMA-IR [HR 1,93 (IC95%: 1,21-3,09); p = 0,006]. En el análisis multivariante mediante regresión logística de la cohorte de validación, encontramos como variables independientes de riesgo de HCC el uso de metformina [OR 0,1 (IC95%: 0,01-0,69); p = 0,019] y la etiología VHC [OR 11,27 (IC95%: 1,32-96,43); p = 0,027].

Conclusiones: El uso de metformina parece ser protector contra el desarrollo de hepatocarcinoma en pacientes cirróticos por el virus de la hepatitis C. Un ensayo clínico aleatorizado doble ciego frente a placebo podría confirmar estos resultados.

P-6. PAPEL DE STAT3 EN LA EXPRESIÓN DE LA CICLINA D1, P21 Y DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS EN CÉLULAS HEPG2 TRATADAS CON PPI-2458

J. Martín-Renedo^{a,b}, J.L. Mauriz^{a,b}, S. Carbajo-Pescador^{a,b}, M. Piva^{a,b}, A. García-Palomo^c y J. González-Gallego^{a,b}

^aCIBERehd.

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

^cServicio de Oncología. Complejo Asistencial Universitario de León. Hospital de León. España.

Introducción y objetivos: PPI-2458, un nuevo derivado del TNP-470, ha sido capaz de mostrar su eficacia en diferentes tipos de células tumorales. Concretamente, en células tumorales hepáticas, este fármaco ha demostrado su capacidad para reducir la viabilidad celular, inducir una parada del ciclo celular y provocar la muerte celular programada. En este estudio hemos investigado, en células derivadas de hepatocarcinoma humano, el efecto del PPI-2458 sobre la vía de señalización celular STAT3 y su relación con el control del ciclo celular y la liberación de citocinas.

Métodos: Las células HepG2 se incubaron en presencia de PPI-2458 a una concentración de 10 nM a distintos tiempos (2-6 días). El test del MTT se utilizó para determinar la viabilidad celular. Además se analizaron distintos marcadores proteicos mediante la técnica de Western-Blot y los niveles de RNA mensajero (RNAm) se determinaron mediante RT-qPCR.

Resultados: El tratamiento de las células HepG2 con PPI-2458 durante 2,4 y 6 días, produjo un marcado descenso de la viabilidad celular desde los dos días de incubación con el fármaco, alcanzando un máximo en células tratadas durante 6 días. La disminución de la viabilidad celular estuvo acompañada por un incremento de los niveles proteicos de fosfo-STAT3 a los tiempos analizados, sin cambios en sus niveles totales. Al analizar los marcadores de ciclo celular ciclina D1 y P21, se observó que el aumento de su expresión se correlacionaba con los niveles de fosfo-STAT3. Posteriormente,

se utilizó un inhibidor de la fosforilación de STAT3 (Stattic), en combinación con PPI-2458, dando como resultado un descenso de los niveles proteicos de ciclina D1 y P21 a los cuatro días de tratamiento. Además, se observó que el fármaco indujo un incremento en la expresión del RNAm de TNF α , IL-1 β y VEGF. Tras la incubación de las células con Stattic en combinación con PPI-2458, se observó un incremento del RNAm de IL-1 β , mientras que los niveles de RNAm de VEGF se vieron disminuidos.

Conclusiones: El PPI-2458 es capaz de inducir un incremento de los niveles proteicos de fosfo-STAT3, proteína que puede controlar la expresión de P21 y ciclina D1. La activación de STAT3 parece capaz de regular la producción de VEGF e IL-1 β . Todos estos datos in vitro aportan una mayor información al conocimiento de los efectos de PPI-2458 sobre la progresión del HCC.

P-7. HEPATOCARCINOMA EN PACIENTES CON INFECCIÓN VIH. ESTUDIO MULTICÉNTRICO

C. Peña^a, S. Pascual^a, E. Merino^b, J. Sánchez-Paya^c, J. López-Aldegue^d, F. Jover^e, E. Ortega^f, M.J. Galindo^g, C. Mínguez^h, S. Padillaⁱ, C. Amador^j y J. Gregori^k

^aUnidad Hepática; ^bUnidad de Enfermedades Infecciosas; ^cServicio de Medicina Preventiva. Hospital General Universitario de Alicante. España.

^dHospital La Fe. Valencia. España.

^eHospital San Juan. Alicante. España.

^fHospital General de Valencia. España.

^gHospital Clínico de Valencia. España.

^hHospital General de Castellón. España.

ⁱHospital General de Elche. Alicante. España.

^jHospital Marina Baixa. Alicante. España.

^kHospital Vega Baja. Alicante. España.

Introducción: Estudios recientes sugieren un peor pronóstico en pacientes VIH + con carcinoma hepatocelular (CHC), en comparación con pacientes no VIH, pero los resultados no son concluyentes y difieren de unas series a otras.

Objetivos: Comparar las características de CHC diagnosticados en pacientes con cirrosis hepática (CH) VIH + respecto a VIH -.

Métodos: Estudio multicéntrico de casos y controles incluyendo pacientes con CH diagnosticados de CHC con VIH+ (casos) y VIH - (controles) entre 1996 y 2010. Se llevó a cabo una aleatorización 4:1 (4 controles por cada caso). Los datos de la población VIH + (n = 54) se recogieron mediante un cuestionario en los centros participantes. La información de la población de pacientes no VIH se obtuvo de la base de datos prospectiva de CHC de nuestro hospital (n = 601, aleatorizados 216). El seguimiento se realizó hasta exitus, pérdida o agosto 2010. Se usó el método de Kaplan-Meier para estimar la probabilidad de supervivencia. Como estadístico de contraste se usó el análisis log-rank. El análisis multivariante se realizó mediante el modelo de regresión de Cox.

Resultados: El 79% de los pacientes VIH + recibían tratamiento con TAR, y presentaban CD4 294 (30-1043), CD4 nadir 154 (21-358). No hubo diferencias en la distribución por sexos, la edad media al diagnóstico fue de 49 años en VIH + vs 66 años VIH - (p 0,005). La etiología de la CH más frecuente fue el VHC (85% en VIH + vs al 53% VIH -, p 0,003). No hubo diferencias en la distribución por Child: A 44% VIH + vs 55% VIH -, B 25% VIH + vs 34% VIH -, C 27% VIH + vs 11% VIH - (p 0,06). El CHC se diagnosticó en un programa de cribado en el 38% de VIH + frente al 56% en VIH - (p 0,06). El 47% de los pacientes VIH + presentó un nódulo único < 5 cm frente al 67% de los VIH - (p 0,04). La trombosis portal fue un hallazgo más frecuente en pacientes VIH (26% vs 18% VIH -, p 0,06). La presencia de metástasis y la clasificación BCLC fue similar en ambos grupos. En relación al tratamiento del CHC, éste fue curativo en un 18% de VIH+ y 27% en VIH - (p 0,003). El 50% de pacientes VIH + no recibió tratamiento

frente al CHC frente al 35% en VIH - (0,004). La supervivencia global al año fue del 33% en VIH +, respecto al 65% de pacientes VIH - (p 0,005). En el análisis multivariante los factores de riesgo de mortalidad por CHC fueron el estadio CD4 (RR 25 IC95% 4,32), Child C (RR 3,01 IC95% 1,1-7,6), la presencia de metástasis (RR 7,2 IC95% 1-13) y el tratamiento no curativo (RR 23 IC95% 2-31).

Conclusiones: En los pacientes VIH + el CHC se diagnostica a una edad más temprana y presenta un peor pronóstico. Sin embargo la mortalidad está relacionada con las características del hepatocarcinoma y la posibilidad de administración de curativo. La menor realización de cribado y el diagnóstico de nódulos de mayor tamaño, podría explicar el peor pronóstico de este tumor en la población VIH, por lo que se debería intensificar los programas de vigilancia en estos pacientes.

P-8. ACTIVACIÓN DE FOXO3A Y REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE BIM EN EL EFECTO PROAPOPTÓTICO INDUCIDO POR LA ADMINISTRACIÓN IN VITRO DE MELATONINA EN HEPATOCARCINOMA

S. Carbajo-Pescador^{a,b}, J.L. Mauriz^{a,b}, J. Martín-Renedo^{a,b}, M. Piva^{a,b}, M.V. García-Mediavilla^{a,b}, M.J. Cuevas^{a,b}, A. García-Palomo^c, P.S. Collado^{a,b}, S. Strand^d y J. González-Gallego^{a,b}

^aCIBERehd.

^bInstituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED).

Universidad de León. España.

^cServicio de Oncología. Complejo Asistencial Universitario de León. Hospital de León. España.

^dDepartment of Internal Medicine. Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz. Alemania.

Introducción: Numerosos estudios confirman los efectos oncos-táticos de la melatonina, apuntando a los potenciales usos de dicho indol en la terapia antitumoral. Previamente, nuestro grupo ha demostrado que la administración de melatonina es capaz de detener el ciclo celular e inducir la apoptosis en células HepG2 de hepatocarcinoma (HCC) humano, efecto aparentemente relacionado con cambios en la expresión de los sus receptores celulares. FoxO3 es un factor de transcripción asociado con la sobre-expresión de genes pro-apoptóticos tales como Bim.

Objetivos: Analizar los efectos de la melatonina sobre la activación de FoxO3a y su papel en la transcripción de Bim en células derivadas de HCC humano.

Métodos: Se emplearon células de la línea HepG2, que fueron tratadas con melatonina a dos concentraciones (1.000 y 2.000 μ M) disueltas en el medio de cultivo. La expresión del gen pro-apoptótico Bim fue analizada tanto por qRT-PCR como por Western-Blot. La activación de FoxO3a se determinó mediante ensayos de luciferasa en células transfectadas y tratadas con melatonina. Se analizó la fosforilación de FoxO3a mediante Western-Blot y su translocación mediante técnicas de inmunofluorescencia.

Resultados: La melatonina, a ambas dosis, es capaz de incrementar la expresión de la proteína pro-apoptótica Bim, tanto a nivel de ARNm como a nivel proteico. Dicho incremento parece relacionado con el aumento inducido por la melatonina en la activación transcripcional de FoxO3a. Además, se observó una disminución de las formas fosforiladas de FoxO3a (Thr32 y Ser262) acompañado por un aumento en la forma total de FoxO3a. La desfosforilación en estos sitios específicos se ha asociado con la translocación de FoxO3a desde el citoplasma al núcleo, siendo necesaria para promover su activación transcripcional. Así, cuando analizamos ubicación de FoxO3a por inmunofluorescencia en células HepG2, observamos una translocación de dicho factor hacia el núcleo inducida por el tratamiento con melatonina.

Conclusiones: Aunque serían necesarios más experimentos para confirmar la existencia de una interacción física entre FoxO3a y el

promotor Bim, nuestros datos confirman el efecto oncostático de la melatonina en HCC, contribuyendo a una mejor comprensión de la vía específica implicada en su capacidad pro-apoptótica.

Estudio financiado por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León, Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación (referencia LE117A11-2).

P-9. LA RADIOEMBOLIZACIÓN HEPÁTICA LOBAR INDUCE HIPERTROFIA DEL LÓBULO CONTRALATERAL

N. Fernández Ros^a, N. Silva^{b,c}, M. Iñarrairaegui^{a,d}, M. Rodríguez^e, A. Benito^b, I. Bilbao^b y B. Sangro^{a,d}

^aUnidad de Hepatología; ^bRadiología; ^cServicio de Medicina Nuclear. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.
^dServicio de Radiología. Hospital Sao Joao. Porto. Portugal.
^eCIBERehd.

Introducción: Existen casos aislados y pequeñas series de casos han sugerido que la radioembolización (RE) de un solo lóbulo hepático puede producir hipertrofia del lóbulo contralateral.

Objetivos: Estudiar los cambios en el volumen del lóbulo no tratado en pacientes sometidos a RE hepática lobar.

Métodos: Se trata de un análisis retrospectivo de todos los pacientes sometidos a RE en los que las microesferas radioactivas fueron inyectadas desde una arterial lobar o sublobar. Se han estudiado los volúmenes de los lóbulos hepáticos derecho e izquierdo (LHD, LHI), volumen esplénico, diámetro portal, cifras de plaquetas, hemoglobina y bilirrubina, así como los cambios en estos parámetros respecto al basal en 3 periodos de tiempo: 2-8 semanas (2-8 s); 9-28 semanas (9-28 s) y > 29 semanas (> 29 s) mediante t de Student de muestras apareadas. Se buscó la asociación entre los cambios de volumen hepático contralateral y la función hepática o la existencia o no de hepatopatía crónica previa mediante t de Student de muestras independientes. La correlación entre el volumen contralateral previo al tratamiento y al cambio de volumen posterior fue estudiada mediante ANOVA.

Resultados: Se han estudiado 83 pacientes con hepatocarcinoma (63%) y otros tumores primarios (5%) o secundarios (32%) tratados mediante RE lobar. Se trató el LHD y LHI en el 79,5% y 20,5% respectivamente. Globalmente se observó un aumento progresivo del volumen del lóbulo contralateral (2-8 s: 73 ml; 9-28 s: 134 ml; > 29 s: 229 ml; p = 0,001, p = 0,000 y p = 0,000, con respecto al valor basal para los tres intervalos respectivamente). Estos resultados se mantienen aun si se excluye a los pacientes con aparición o progresión de enfermedad en el lóbulo no tratado. Así mismo, se observó una disminución del volumen del lóbulo tratado (2-8 s: -64 ml; 9-28 s: -218 ml; > 29 s: -321 ml; p = 0,041, p = 0,000 y p = 0,000, respectivamente) no existiendo cambios en el volumen hepático total. Estos cambios se produjeron independientemente de cuál fuera el lóbulo tratado. El incremento del volumen del lóbulo no tratado fue mayor en los pacientes sin hepatopatía crónica (190 ml vs 84 ml a las 9-28s, p = 0,02). Se observó una correlación entre el volumen basal del lóbulo no tratado y su incremento a las 9-28s (r = 0,101; p = 0,008). No hemos observado cambios significativos en el volumen esplénico o la cifra de plaquetas sugestivos de aparición o progresión de hipertensión portal.

Conclusiones: La RE lobar produce una hipertrofia del lóbulo contralateral cuya magnitud podría asociarse a la presencia de hepatopatía y la función hepática previas al tratamiento. Con estos datos está justificado estudiar los mecanismos de inducción de esta hipertrofia y su utilidad clínica como estrategia de rescate para resección quirúrgica.

P-10. IDENTIFICACIÓN DE FACTORES PREDICTIVOS DE SUPERVIVENCIA EN UNA COHORTE DE PACIENTES CON CARCINOMA HEPATOCELULAR AVANZADO TRATADOS CON SORAFENIB: RESULTADOS DE UN REGISTRO MULTICÉNTRICO

J.F. Castroagudín^a, E. Molina Pérez^a, J. Turnes Vázquez^b, M.B. Delgado Blanco^c y R.M. Macenlle García^d

^aUnidad de Hepatología. Hospital Clínico Universitario de Santiago. A Coruña. España.

^bComplejo Hospitalario de Pontevedra. España.

^cComplejo Hospitalario Universitario A Coruña. España.

^dComplejo Hospitalario de Ourense. España.

Introducción: Sorafenib ha demostrado beneficio en cuanto a incremento de la supervivencia en enfermos con carcinoma hepatocelular (HCC) en estadio avanzado. Sin embargo, en los ensayos clínicos de referencia no se han identificado factores que identifiquen subgrupos de pacientes con mejores resultados de supervivencia.

Objetivos: Evaluar los factores que influyen en la supervivencia de pacientes con HCC avanzado sometidos a terapia con sorafenib.

Métodos: Se efectuó un análisis retrospectivo de una base de datos en la que se incluyeron pacientes diagnosticados de HCC y tratados con sorafenib desde junio de 2007 a septiembre de 2010 en 4 centros de la red sanitaria pública gallega. Se realizó una evaluación clínica y analítica basal y a 1, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses de tratamiento. La terapia con sorafenib se mantuvo hasta la progresión sintomática o la aparición de un evento adverso grave.

Resultados: 79 pacientes (73 varones, edad media 64,4 ± 10,8 años) con HCC fueron tratados con sorafenib a lo largo del período de estudio. La etiología de la enfermedad hepática fue alcohólica en 32 pacientes, infección por VHC en 31, VHB en 5, hemocromatosis en 4 y sendos casos de EHNA y criptogénica. Al comienzo del tratamiento el 88,6% de los pacientes fueron clasificados como Child-Pugh A y 69,6% eran PST ECOG 0. En 28 enfermos (35,4%) el HCC se presentó como progresión o recurrencia a tratamientos previos. 29 sujetos (36,7%) presentaban un HCC en estadio intermedio no subsidiario de TACE. La mediana de la AFP basal fue de 32.100 ng/mL. La mediana de duración del tratamiento con sorafenib fue 112,5 días. La mediana de supervivencia global fue de 172 días. En el análisis univariante (log rank test), la edad < 70 años, ECOG > 1, bilirrubina basal > 1,2 mg/dL, AST > 60 UI/L, albúmina basal < 3,7 g/dL, AFP basal elevada, Child-Pugh basal B, MELD basal > 8, presencia de ascitis, trombosis portal y la diseminación extrahepática se asociaron con una peor supervivencia. En el análisis multivariante mediante regresión logística el ECOG, la AFP, la puntuación MELD y el estadio según BCLC fueron predictores independientes de supervivencia.

Conclusiones: En la presente serie, los parámetros que indican un peor funcionalismo hepático (Child-Pugh, MELD, ascitis) y aquellos relacionados con un HCC más avanzado (AFP, BCLC) se asociaron con la supervivencia. Estos factores permitirían seleccionar aquellos enfermos con HCC con mejores resultados tras el tratamiento con sorafenib.

P-11. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN IN VITRO DE PTK787 SOBRE LA PROGRESIÓN DEL CICLO CELULAR EN LA LÍNEA DE HEPATOCARCINOMA HUMANO HUH7 TRAS INDUCCIÓN CON VEGF Y EGF

M. Piva^{a,b}, S. Carbajo-Pescador^{a,b}, J. Martín-Renedo^{a,b}, A. García-Palomo^c, J.L. Mauriz^{a,b} y J. González-Gallego^{a,b}

^aCIBERehd.

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

^cServicio de Oncología. Complejo Asistencial Universitario de León. Hospital de León. España.

Introducción: El carcinoma hepatocelular (HCC) es el quinto tumor más frecuente en el mundo. Representa cerca de 6% de todos los tumores malignos y la tercera causa de muerte, ocasionando aproximadamente 600.000 defunciones todos los años. El PTK787 es un antiangiogénico que bloquea la señalización de los receptores de VEGF y EGF, hecho que le convierte en un fármaco muy prometedor en la terapia antitumoral, en especial para el HCC, un tumor altamente vascularizado y que se caracteriza por una sensibilidad reducida a los tratamientos convencionales, siendo frecuente la aparición de quimiorresistencia.

Objetivos: Determinar el efecto del PTK787 sobre la proliferación de las líneas celulares derivadas de HCC humano HuH7; verificar si sus efectos antiproliferativos están relacionados con la parada del ciclo celular y observar dichos parámetros tras inducción con VEGF y EGF.

Métodos: Se trataron células de la línea HuH7 durante 12 o 24 horas con PTK787 [40 μ M] disuelto en medio de cultivo; utilizándose como control células tratadas con vehículo. Para los estudios de inducción las células eran además tratadas con VEGF [100 ng/mL] y/o EGF [75 ng/mL] durante 20 y 5 minutos, respectivamente. La viabilidad celular fue determinada mediante el ensayo del MTT, cuantificándose la expresión de las proteínas reguladoras del ciclo celular: ciclina D1, ciclina E, CDK 2, CDK 4, p-RB y E2F a través de la técnica de Western Blot.

Resultados: El tratamiento con PTK787 indujo una amplia reducción en la proliferación celular en ambos tiempos de tratamiento y tras las dos inducciones. Así, observamos cambios estadísticamente significativos en la expresión de las proteínas reguladoras del ciclo celular; en especial en la ciclina D1, con una reducción de aproximadamente 80%. Incluso tras la inducción con VEGF y EGF, el PTK 787 se mostró capaz de regular negativamente los niveles de ciclina D1 y del resto de proteínas reguladoras del ciclo celular CDK 2, CDK 4, ciclina E, p-RB y E2F.

Conclusiones: Se confirma el efecto antiproliferativo de PTK787 sobre la línea HuH7 derivada de HCC humano, efecto relacionado con la parada del ciclo celular en G1 a través de la disminución de los niveles de ciclina D1, reduciéndose la progresión del ciclo celular a partir de esa fase. Aunque son necesarios más estudios, nuestros experimentos indican que el fármaco PTK787, además un papel antiangiogénico, parece tener un efecto antiproliferativo directo sobre las células tumorales procedentes de HCC.

P-12. DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y RIESGO DE HEPATOCARCINOMA EN PACIENTES CIRRÓTICOS

M. Fernández Gil, J.L. Lledó Navarro, C.M. Fernández Rodríguez, M.L. Gutiérrez García, S. Alonso López, I. Gómez Molins y R. de la Cruz Burgos

Fundación Hospital Alcorcón. Madrid. España.

Introducción: El carcinoma hepatocelular constituye una de las principales causas de mortalidad en pacientes con cirrosis. En la última década ha aumentado su incidencia. Se ha sugerido que la diabetes mellitus incrementa el riesgo de carcinoma hepatocelular (CHC) en esta población.

Objetivos: El objetivo principal fue valorar si la diabetes mellitus tipo 2 (DM tipo 2) constituye un factor de riesgo para el desarrollo de carcinoma hepatocelular en pacientes con cirrosis. El objetivo secundario fue evaluar si otros factores de riesgo ya descritos previamente, se asocian en la presente muestra, fundamentalmente la hepatitis B, hepatitis C y enolismo crónico y cirrosis de otras etiologías.

Métodos: Estudio de casos-controles. Se incluyeron 162 pacientes con cirrosis de diferentes etiologías para evaluar la asociación de la diabetes mellitus y otros factores de riesgo conocidos con el desarrollo de carcinoma hepatocelular. De los pacientes incluidos,

91 presentaban CHC. Se incluyeron como controles 71 pacientes con cirrosis de distintas etiologías en seguimiento en nuestra unidad, en los que hasta el momento de inclusión, no se había documentado CHC. Se realizó un análisis univariable entre los distintos factores etiológicos con la variable dependiente (CHC). Las variables estadísticamente significativas en este análisis se introdujeron en un modelo de regresión logística ajustando por variables de confusión.

Resultados: En el análisis multivariable los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 presentaron una asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de CHC: OR 2,104 (IC95% = 1,016-4,356. $p < 0,05$). Así mismo, la infección crónica por virus de la hepatitis C, se asoció de manera independiente al desarrollo de CHC: OR = 4,936 (IC95% = 2,494-9,771. $p < 0,05$).

Conclusiones: La diabetes mellitus tipo 2 es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de CHC. Por otro lado, estos resultados, confirman que la hepatitis C es uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de CHC en nuestro medio.

P-13. EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA TACE CON DC-BEADS EN UNA COHORTE DE 108 PACIENTES

M. Pipa-Muñiz^a, M. Varela^a, S. Sanmartino^b, E. Rodríguez^b, F. Vega^b, A. Mesa^c, M. Alagueró^d, P. Álvarez-Martínez^a, C. Ordieres-Díaz^a, L.H. Luyando^e y M. Rodríguez^e

^aSección de Hepatología; ^bSección de Radiología Intervencionista; ^cSección de Radiodiagnóstico; ^dServicio de Farmacia; ^eUniversidad de Oviedo. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. España.

Introducción y objetivos: Se ha demostrado que la TACE aumenta la supervivencia en pacientes con carcinoma hepatocelular en estadio intermedio. Aparte de los ensayos clínicos, existen pocas series de pacientes que avalen los resultados de la TACE con DC-Beads en la práctica real. Los objetivos del estudio son determinar la eficacia y seguridad de la TACE con DC-Beads en una cohorte de pacientes consecutivos tratados en un hospital de referencia.

Métodos: Desde OCT-08 hasta OCT-11 se han incluido 108 pacientes: 86% hombres, edad media 66 años, 42% con cirrosis por alcohol, 46% VHC, 39% diabéticos, IMC medio 28 Kg/m², Child medio 5, MELD 9, 51% BCLC-A, 49% BCLC-B, 58% uninodulares, diámetro medio 40 mm, 22% enfermedad bilobar, AFP basal media 216 ng/mL; 19% con progresión tras resección hepática o fracaso de la ablación percutánea. El procedimiento se realiza de forma supraselectiva con partículas de 300-500 micras, incluyendo la embolización de arterias extrahepáticas si realizan aporte vascular a las lesiones. La dosis media de adriamicina administrada por procedimiento fue de 98 mg. No se ha utilizado lipiodol. El calendario de TACEs se ha ajustado a la progresión tumoral evaluada según los criterios mRECIST durante el seguimiento.

Resultados: Se han realizado 185 TACEs: 1 TACE en 54 pacientes, 2 en 32, 3 en 17 y 4 han recibido 4. Complicaciones clínicas: 8 ascitis, 1 colecistitis isquémica, tres abscesos, 1 infarto agudo de miocardio (IAM-noQ), 2 hematomas inguinales, 1 reingreso por síndrome post-TACE prolongado; complicaciones radiológicas asintomáticas: 4 trombosis portales segmentarias, 4 dilataciones biliares periféricas; complicaciones técnicas: 1 disección arterial, 2 hemorragias intratumorales (coils). Respuesta al tratamiento: la tasa de respuesta tumoral objetiva (RO) se mantiene a lo largo del tratamiento: 62,8% tras la 1ª TACE, 53,5% tras la 2ª y 46,6% tras la 3ª. Al final del seguimiento han fallecido 17 pacientes (16%), 1 por absceso post-TACE y 8 por progresión tumoral. El tiempo medio a progresión radiológica (TTP) es de 5,89 meses. La supervivencia global media hasta el inicio de sorafenib (16 pacientes) o trasplante (8) es de 25,6 + 1,4 meses (IC95% 23-28,3). La repetición de sesiones de TACE tiene impacto positivo sobre la supervivencia, HR

2,59 (IC95% 0,69-9,75). Valores basales de AFP > 1.000 ng/mL constituyen un factor de riesgo de mortalidad independiente del nº de TACEs realizadas, respecto a aquellos con AFP basal < 20 ng/mL: HR 4,53 (IC95% 1,11-18,50; p = 0,035).

Conclusiones: Un 10% de los pacientes presentan complicaciones clínicas tras la primera sesión de TACE, siendo la ascitis la más frecuente. La eficacia antitumoral se mantiene a lo largo del tiempo, aunque es preciso un seguimiento a más largo plazo para determinar el impacto global del tratamiento en la supervivencia.

Complicaciones de la cirrosis

P-14. CONTROL TRADUCCIONAL DE LA ANGIOGÉNESIS EN LA HIPERTENSIÓN PORTAL MEDIADO POR LA FAMILIA DE PROTEÍNAS CPEB

J. Gallego^a, V. Calderone^b, E. García-Pras^a, J. Bosch^a, R. Méndez^b y M. Fernández^a

^aLaboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBEREHD. Universitat de Barcelona. España.

^bInstituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona. España.

La angiogénesis, es decir la formación de nuevos vasos sanguíneos, juega un importante papel en la patofisiología de la hipertensión portal contribuyendo al mantenimiento de una elevada presión portal y al desarrollo de circulación esplácnica hiperkinética y vasos colaterales portosistémicos. La angiogénesis patológica también está íntimamente relacionada con la fibrogénesis y, por tanto, con el aumento de resistencia intrahepática del hígado cirrótico. El control traduccional de la expresión génica es un regulador clave de muchos procesos biológicos. El principal mecanismo de regulación traduccional implica cambios en la longitud de la cola de poli-A de mRNAs específicos mediados por la proteína de unión a elementos de poliadenilación citoplasmática (CPEB). El objetivo de este estudio fue determinar si la angiogénesis y la expresión del factor proangiogénico VEGF están regulados traduccionalmente por la CPEB. La hipertensión portal se indujo en ratas Sprague-Dawley mediante ligadura de la vena porta. Observamos que la región no traducida del extremo 3' del mRNA del VEGF presentaba varios elementos de poliadenilación citoplasmática (CPEs), sugiriendo que el VEGF podría estar potencialmente regulado a nivel traduccional mediante la CPEB. Además, los aumentos en la proteína VEGF observados en el mesenterio de ratas con hipertensión portal no se correlacionaron con aumentos paralelos del mRNA del VEGF, indicando que en este contexto el VEGF no estaba regulado transcripcionalmente. Mediante inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y western blotting, demostramos que la CPEB se activaba durante el curso de la hipertensión portal colocalizando con el VEGF en zonas ricas en angiogénesis dentro de la vasculatura mesentérica de ratas con hipertensión portal. También observamos que el mRNA del VEGF era capaz de reclutar a la proteína CPEB (mediante inmunoprecipitación seguida de RT-PCR), y que esta interacción causaba la poliadenilación del RNAm del VEGF (mediante RNA-ligación-coupled RT-PCR). Para determinar de forma más precisa si la angiogénesis es uno de los procesos biológicos regulados a nivel traduccional por la CPEB, usamos una línea de células endoteliales que forma estructuras tubulares cuando se cultiva en Matrigel. Transfectamos estas células con lentivirus que expresaban shRNAs contra la CPEB y vimos que la menor expresión de CPEB en estas células se asociaba a una deficiente poliadenilación del RNAm del VEGF, a una reducida expresión de la proteína VEGF, y a una menor capacidad de estas células de formar estructuras tubulares en Matrigel. Estos resultados

apoyan un nuevo mecanismo de regulación de la angiogénesis en la hipertensión portal a través de un control traduccional mediado por la familia de proteínas CPEB.

P-15. MEJORÍA DE LA CAPACIDAD DE LA ELASTOGRAFÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE HIPERTENSIÓN PORTAL CLÍNICAMENTE SIGNIFICATIVA MEDIANTE ÁRBOLES DE DECISIÓN CLÍNICA

I. Yepes Barreto, D. Rincón Rodríguez, A. Fernández Yunquera, C. Ripoll Noiseaux, M. Salcedo Plaza, T. Chiva Robles, M. Senosiain, A. Ochoa, G. Clemente Ricote y R. Bañares Cañizares

CIBEREhd. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Introducción: Se ha sugerido que la elastografía transitoria (ET) es útil en el diagnóstico de hipertensión portal clínicamente significativa (HPCS). Sin embargo la utilización de diferentes puntos de corte para descartarla (= 13,6 Kp) o confirmarla (= 21 Kp), origina un área de incertidumbre diagnóstica (13,6 Kp-21 Kp). Los árboles de decisión clínica (CART) pueden mejorar la predicción por su capacidad para detectar interacciones sinérgicas entre diferentes predictores. Además se ha descrito que la presión de llenado, la inflamación y el flujo sanguíneo hepático entre otros factores pueden afectar las estimaciones elastográficas.

Objetivos: 1) Estimar la precisión diagnóstica de la ET para (HPCS) mediante el uso de CART; 2) Valorar la influencia de parámetros hemodinámicos y bioquímicos, previamente sugeridos en la literatura, en las mediciones elastográficas.

Métodos: Se incluyeron 84 pacientes con diagnóstico confirmado de cirrosis [VHC (77%)], en los que se realizó un estudio hemodinámico para valoración pronóstica (n = 52) o terapia del hepatocarcinoma (n = 32). La ET se realizó en ayunas e inmediatamente antes del estudio hemodinámico. Se registraron variables analíticas, clínicas, hemodinámica y el flujo sanguíneo hepático (FSH) estimado mediante infusión continua de verde de indocianina. La precisión diagnóstica se estimó en función de la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN. La regresión logística (RL) identificó las variables pronósticas de HPCS y la regresión lineal las modificadoras de los valores elastográficos.

Resultados: Objetivo 1: Sesenta y cinco pacientes tenían HPCS. El valor mediano del gradiente de presión venosa hepática (GPVH) y de ET fue 12 mmHg (rango 4-26,5) y 20 Kp (4,6-75), respectivamente. La RL identificó la ET (OR = 1,58 [IC95% 1,1-1,2], p < 0,001), la albúmina (OR = 0,04 [IC95% 0,002-0,92], p = 0,04) y las plaquetas (OR = 0,96 [IC95% 0,93-0,99], p = 0,03) como variables pronósticas relevantes de HPCS. Un análisis CART que incluía estos predictores incrementó la eficiencia diagnóstica (83% vs 68%), la sensibilidad (89% vs 63%), el VPN (100% vs 64%) y clasificó correctamente a un 77% de los pacientes con valores ET entre 13,6 y 21 kP (zona de incertidumbre). En 14 pacientes (17%) no se logró establecer con certeza la presencia o ausencia de HPCS. Objetivo 2: En un modelo multivariante que incluyó GPVH, ALT, índice de masa corporal, gasto cardíaco, presión auricular derecha y el FSH, únicamente el GPVH (b = 2,1, p < 0,001) y el FSH (b = 7,88, p = 0,06) fueron predictores independientes de los valores elastográficos (Kp).

Conclusiones: Los CART mejoran la eficiencia diagnóstica de la ET y estiman con mayor precisión el riesgo de HPCS en aquellos pacientes con valores ET dentro del área de incertidumbre diagnóstica. El FSH influye sobre las estimaciones de la ET. Esta asociación debe tenerse en cuenta para la interpretación de sus resultados en situaciones clínicas capaces de modificarlo.

P-16. EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN KLF2 MEDIA LA PROTECCIÓN ENDOTELIAL HEPÁTICA CONFERIDA POR LAS ESTATINAS

G. Marrone^a, L. Russo^a, E. Rosado^a, D. Hide^a, G. García-Cardena^b, J.C. García-Pagán^a, J. Bosch^a y J. Gracia-Sancho^a

^aLaboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBEREHD. Universitat de Barcelona. España.

^bHarvard Medical School. Department of Pathology. Boston. Massachusetts. EE.UU.

Introducción: El factor de transcripción KLF2 modula diferentes programas vasoprotectores (anti-inflamatorios, anti-trombóticos y vasodilatadores) y su expresión es inducida por el estrés por rozamiento derivado del flujo sanguíneo y por las estatinas. Recientemente hemos demostrado que la expresión endotelial hepática de KLF2 se ve modificada en respuesta al estrés por rozamiento, sin embargo los efectos de las estatinas sobre los programas derivados de KLF2 en el hígado son desconocidos. El presente estudio tiene como objetivo caracterizar la vasoprotección hepática derivada de KLF2 en respuesta a las estatinas.

Métodos: a) La expresión de KLF2 y sus genes diana vasoprotectores fue determinada en células endoteliales sinusoidales (SEC) procedentes de ratas controles y cirróticas tratadas con cuatro diferentes estatinas (atorvastatina, mevastatina, simvastatina y lovastatina; 0.1, 1 y 10 μ M durante 6, 12, 24h y 3 días), en presencia de mevalonato (o su vehículo), bajo estímulo de estrés por rozamiento (o en condiciones estáticas). b) Los efectos beneficiosos de la regulación al alza de KLF2 en el endotelio hepático fue confirmada analizando los programas vasoprotectores derivados de este factor de transcripción en: 1) SEC incubadas con vectores adenovirales codificantes para KLF2 (Ad-KLF2) o GFP (Ad-control), 2) SEC aisladas de ratas previamente infectadas con dichos adenovirus, y 3) SEC transfectadas con siRNA específico para KLF2 o siRNA-control y posteriormente incubadas con estatinas.

Resultados: a) La administración de estatinas a las SEC indujo un aumento significativo de la expresión de KLF2, siendo simvastatina la más efectiva. La regulación al alza de KLF2 se observó tras 6h de la administración de la estatina, alcanzó máxima expresión tras 24h y fue acompañada de la inducción de sus programas vasoprotectores. Dicha vasoprotección fue magnificada en aquellas células cultivadas bajo condiciones fisiológicas de estrés por rozamiento y fue inhibida en presencia de mevalonato. b) El aumento de la expresión de KLF2 debido a infección adenoviral activó sus programas vasoprotectores, tanto in vitro como in vivo. Es decir, SEC incubadas con Ad-KLF2 y SEC aisladas de animales infectados con Ad-KLF2 mostraron un marcado y significativo aumento en la expresión de KLF2 y de sus dianas transcripcionales vasoprotectoras. Finalmente, aquellas células cuya expresión de KLF2 fue silenciada mediante siRNA no respondieron a la administración de simvastatina.

Conclusiones: El conjunto de resultados demuestran que la inducción de la expresión de KLF2 confiere vasoprotección hepática. La activación de los programas vasoprotectores derivados de este factor de transcripción podría representar uno de los mecanismos moleculares que explican la protección endotelial hepática conferida por las estatinas, reforzando así el potencial terapéutico de estos fármacos para el tratamiento de la hipertensión portal y de otras hepatopatías que cursen con disfunción endotelial.

P-17. ACUTE-ON-CHRONIC LIVER FAILURE EN PACIENTES CON CIRROSIS Y HEMORRAGIA DIGESTIVA POR HIPERTENSIÓN PORTAL: FRECUENCIA, FACTORES PREDICTIVOS Y PRONÓSTICO

E. Solà^a, A. Cárdenas^b, M. Guevara^b, G.H. Pereira^b, C. Fagundes^b, E. Rodríguez^b, J. Fernández^b, A. Escorsell^b, A. Mas^b, M. Pavesi^b, V. Arroyo^b y P. Ginès^b

^aUnidad de Hepatología. Hospital Clínic. CIBEREhd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona.

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

Introducción: Acute-on-chronic liver failure (ACLF) es un síndrome caracterizado por un deterioro agudo de la función hepática asociado a fallo de órganos extrahepáticos en pacientes con cirrosis previamente estable, que habitualmente se desencadena por un factor precipitante agudo. El posible papel de la hemorragia digestiva por hipertensión portal como un factor precipitante de ACLF no se ha investigado específicamente.

Objetivos: Evaluar la incidencia, factores predictivos y el pronóstico de ACLF en pacientes con cirrosis y hemorragia digestiva por hipertensión portal.

Métodos: Estudio prospectivo que incluye 78 pacientes consecutivos con cirrosis y hemorragia digestiva por hipertensión portal. ACLF se ha definido arbitrariamente como un aumento de la bilirrubina sérica > 50% respecto al ingreso, con un valor final = 5 mg/dL y un descenso en el tiempo de protrombina hasta un valor inferior al 40%, asociado al desarrollo de insuficiencia renal y/o encefalopatía hepática grado II o superior.

Resultados: Nueve de los 78 pacientes incluidos (12%) desarrollaron ACLF durante la hospitalización. El desarrollo de ACLF se relacionó principalmente con la intensidad de la hemorragia. Las variables asociadas con un mayor riesgo de ACLF fueron unos requerimientos transfusionales elevados durante las primeras 24 horas (4 ± 3 y 2 ± 2 - media \pm DE- concentrados de hematies, en pacientes con y sin ACLF, respectivamente; $p = 0,015$), presión arterial media baja (69 ± 7 vs 78 ± 15 mmHg, respectivamente; $p = 0,025$), y shock hipovolémico (67 vs 29% , respectivamente, $p = 0,033$). Otras variables independientemente asociadas con el desarrollo de ACLF fueron los niveles de AST (213 [55-1207] vs 48 [23-68] IU/L - mediana [RIQ]-, respectivamente; $p = 0,008$) y la puntuación de MELD (18 ± 7 vs 13 ± 7 , respectivamente; $p = 0,05$) y SOFA (7 ± 3 vs 4 ± 2 , respectivamente; $p = 0,002$) elevadas al ingreso. Ni la bilirrubina ni la creatinina séricas al ingreso fueron factores predictivos de ACLF. El desarrollo de ACLF se asoció a un mal pronóstico, con una elevada incidencia de infecciones bacterianas (89 vs 36% ; $p = 0,004$) y una mortalidad intrahospitalaria muy elevada (89 vs 9% ; $p < 0,0001$).

Conclusiones: ACLF es un evento relativamente infrecuente en pacientes con cirrosis y hemorragia digestiva por hipertensión portal, pero su desarrollo se asocia con una elevada incidencia de infecciones bacterianas y a un pronóstico infausto. Los factores de riesgo se relacionan principalmente con la intensidad de la hemorragia y con puntuaciones de MELD y SOFA elevadas. Los resultados de este estudio sugieren que la isquemia relacionada con la intensidad de la hemorragia actúa como un insulto agudo que condiciona el deterioro progresivo de la función hepática característico del ACLF y la aparición de infecciones. El control precoz de la hemorragia es fundamental para la prevención del ACLF en estos pacientes.

P-18. ACTIVACIÓN DEL INFLAMASOMA EN PACIENTES CON CIRROSIS Y ASCITIS ESTÉRIL

J.M. González Navajas, I. García Martínez, R. Francés Guarínos y J. Such Ronda

Centro de Investigación Biomédica en Red de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBEREhd).

Introducción: Una característica fundamental de la respuesta inmune frente a la infección es la activación de unos complejos multiproteicos, denominados inflamasomas, que desencadenan la maduración de la enzima caspasa-1 y el consiguiente procesamiento y maduración de citocinas pro-inflamatorias como IL-1 β , IL-18 o

IL-33. El inflammasoma se activa frente a numerosos motivos microbianos, tal como el DNA bacteriano (DNAbact). Entre el 35 y 40% de los pacientes con cirrosis y ascitis estéril muestran la presencia de DNAbact que se asocia a una respuesta inmune exacerbada, lo que empeora su pronóstico. En este estudio, nos proponemos estudiar el papel del inflammasoma en la respuesta inflamatoria producida por la presencia de DNAbact en el LA de estos pacientes.

Métodos: Serie prospectiva de 26 pacientes con ascitis no neutrocítica y cultivo negativo.

Resultados: Los pacientes con cirrosis y ascitis fueron divididos en "positivos" (n = 10) o "negativos" (n = 16) de acuerdo a la presencia o ausencia de DNAbact en líquido ascítico (LA), respectivamente, detectado mediante PCR convencional. Se midió la presencia de IL-1 β e IL-18 a nivel proteico en LA. El nivel de ambas citocinas en pacientes positivos fue significativamente mayor que en LA de pacientes negativos (IL-1 β p = 0,02, IL-18 p = 0,05). La expresión a nivel de mRNA de caspasa-1 y de diferentes genes diana de la IL-1 β , tales como IL-8, IL-1 β , I-Ba o IL-6 fue significativamente mayor en células leucocitarias mononucleares derivadas del LA de pacientes positivos en comparación con pacientes negativos. Por último, evaluamos el nivel de caspasa-1 activada (subunidad p20) en macrófagos procedentes del LA de los dos grupos de pacientes mediante inmunoblot. En condiciones basales, el nivel de subunidad p20 resultó mayor en macrófagos aislados del LA de pacientes positivos en comparación con pacientes negativos. Del mismo modo, la estimulación con DNA de *E. coli* se tradujo en un mayor procesamiento de caspasa-1 p20, y en mayor producción de IL-1 β en macrófagos procedentes del LA de pacientes positivos.

Conclusiones: Estos datos sugieren que la presencia de DNA bacteriano desencadena la activación del inflammasoma en células inmunes presentes en el LA de pacientes con cirrosis y ascitis, y la consiguiente liberación de citocinas pro-inflamatorias como IL-1 β e IL-18. La IL-1 β juega un papel fundamental en la respuesta frente a infecciones. Sin embargo, la producción excesiva de esta citocina se asocia a enfermedades autoinmunes, inflamación crónica y shock séptico. Por tanto, en condiciones no infectadas, la activación del inflammasoma en respuesta a productos microbianos puede desembocar en inflamación exacerbada y shock inflamatorio, y podría explicar el desarrollo inflamatorio que se observa en este subgrupo de pacientes con ascitis estéril. Sin embargo, más estudios son necesarios para poder comprobar si este hecho se asocia al peor pronóstico relacionado con la traslocación observada en estudios previos.

P-19. LA ALTERACIÓN EN LA EXPRESIÓN DE NEUROMODULADORES EN EL GANGLIO MESENTÉRICO SUPERIOR PUEDE PROVOCAR LA ATROFIA SIMPÁTICA DE RATAS CON HIPERTENSIÓN PORTAL

N. Ezcurdia Garmendia^a, I. Raurell^a, S. Rodríguez^a, R. Esteban^{a,b}, J. Genescà^{a,b} y M. Martell^a

^aHospital Universitari Vall d'Hebron. Institut de Recerca (VHIR). Unidad de Hepatología. Departamento de Medicina Interna. Universitat Autònoma de Barcelona. España.

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

Introducción: El bloqueo de los nervios aferentes sensitivos en ratas con hipertensión portal previene simultáneamente la activación de c-fos en los núcleos cardiovasculares reguladores del cerebro, la atrofia simpática de los nervios que inervan la arteria mesentérica superior y el desarrollo de las alteraciones hemodinámicas propias de la hipertensión portal. Considerando esta vía neuronal, la señal responsable de la atrofia simpática post-ganglionar podría tener su origen en las fibras pre-ganglionares que hacen conexión sináptica en el ganglio mesentérico superior (GMS).

Objetivos: Investigar las alteraciones en la expresión de neuromoduladores que puedan estar participando en la regulación de la

actividad neuronal dentro del GMS simpático, durante la hipertensión portal.

Métodos: Ratas con ligadura de la vena porta (PVL, n = 7) y operación ficticia sham (n = 7). Extracción del GMS al final del modelo para i) Análisis de expresión de proteínas mediante Western blot de tirosina hidroxilasa (Th) (como marcador adrenérgico), semaforina 3A (Sema3A) (inhibidor de crecimiento neuronal), factor de crecimiento nervioso (NGF) (neurotrofina) y de su precursor proNGF, así como de los receptores de neurotrofinas TrkA y p75NTR, que determinan proliferación o muerte celular, respectivamente; ii) Localización y cuantificación de Sema3A por inmunofluorescencia; iii) Co-localizaciones simultáneas de Sema3A con Th, óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), proteína relacionada con el gen de la calcitonina (CGRP) y transportador vesicular de acetilcolina (VACHT); iv) Detección y localización del receptor de Sema3A, neuropilina-1 (NP-1) y de p75NTR y TrkA por inmunofluorescencia.

Resultados: El análisis de expresión de proteínas mostró una disminución de Th en los somas de las neuronas del GMS de ratas PVL respecto a sham (p = 0,008), confirmando el déficit adrenérgico de los nervios simpáticos que inervan la arteria mesentérica superior. Por el contrario, se observó una sobreexpresión de NGF (p = 0,01) y proNGF (p = 0,01), así como un incremento significativo de Sema3A (p = 0,005) en ratas PVL comparadas con sham. La cuantificación de Sema3A por inmunofluorescencia confirmó este incremento (p < 0,001), mostrando además un patrón de tinción alrededor de las neuronas adrenérgicas del GMS que colocaliza únicamente con VACHT, lo que sugiere su origen en los nervios simpáticos colinérgicos pre-ganglionares. Finalmente, resultados preliminares muestran señal inmunofluorescente de NP-1, p75NTR y TrkA que tiñen los somas de las neuronas adrenérgicas, confirmando la expresión de los receptores en las mismas. Así mismo se observó un aumento significativo de la relación p75NTR/TrkA en PVL respecto a sham (p = 0,007). La sobreexpresión de proNGF/NGF en GMS de ratas PVL junto a un incremento del receptor p75NTR que induce regresión axonal y la sobreexpresión de Sema3A que inhibe el crecimiento axonal dependiente de NGF-TrkA, sugiere que en ratas PVL el sistema estaría encaminándose hacia la vía de regresión axonal o apoptosis mediada por p75NTR.

Conclusiones: La alteración adrenérgica y atrofia simpática observadas en los vasos mesentéricos en la hipertensión portal pueden tener su origen en alteraciones de la neuromodulación que conducen a regresión axonal y apoptosis.

P-20. LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE *B. INFANTIS* FAVORECE UNA REDUCCIÓN DE LOS EPISODIOS DE TRASLOCACIÓN DE ADN BACTERIANO A GANGLIOS LINFÁTICOS MESENTÉRICOS EN RATONES CON CIRROSIS INDUCIDA POR ADMINISTRACIÓN DE TETRACLORURO DE CARBONO

I. Gómez-Hurtado^{a,b}, P. Zapater^{a,b}, G. Peiró^c, J.M. González-Navajas^{a,b}, M. Pérez-Mateo^b, J. Such^{a,b}, Y. Sanz^d y R. Francés^{a,b}

^aCIBERehd.

^bUnidad Hepática; ^cUnidad de Investigación. Hospital General Universitario de Alicante. España.

^dInstituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC. Departamento de Ecología Microbiana. Valencia. España.

Introducción: La traslocación de ADN bacteriano es un fenómeno frecuente en la cirrosis. La integridad de la barrera intestinal y el equilibrio inflamatorio son fundamentales en la patogenia de episodios de traslocación de ADN bacteriano. Productos como la interleucina (IL)-10 o *Bifidobacterium infantis* han mostrado su eficacia en el control de la respuesta inflamatoria.

Objetivos: La administración de productos que promuevan estos efectos homeostáticos favorecería la reducción de los episodios de

traslocación de ADN bacteriano en la cirrosis. Por tanto, el objetivo de este estudio es valorar una posible reducción en la tasa de traslocación de ADN bacteriano en ganglios linfáticos mesentéricos (GLMs) de ratones con cirrosis inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄) y tratados con IL-10 y B. infantis.

Métodos: Se indujo daño hepático crónico durante 16 semanas en ratones Balb/c mediante administración oral de CCl₄ dependiente del peso. Tras las 16 semanas, los animales fueron distribuidos en grupos para la administración de IL-10 chimera (1.000 U/48h/IP), B. infantis (109 CFU/día/oral) o vehículo durante 1 semana. Tras ese periodo se administró E. coli (106 CFU/IP) a la mitad de cada subgrupo de animales. A las 24 horas se realizaron laparotomías y se tomaron muestras de tejido hepático, GLMs y sangre. Se cuantificó el grado de fibrosis hepática mediante histología y expresión de genes profibrogénicos TGF- β -1, Procollagen α -1, TIMP-1 y MMP-2 en hígado y se determinó la tasa de traslocación de ADN bacteriano en GLMs y sangre en todos los subgrupos de animales.

Resultados: 30 ratones fueron incluidos en los subgrupos de estudio. La valoración histológica y los niveles de expresión de genes profibrogénicos confirmaron el daño hepático en todos los animales. Cuatro de los 5 animales con vehículo mostraron ADN bacteriano en GLMs (80%). La administración de IL-10 y de B. infantis redujo esta tasa a 1 (20%) y 2 (40%) de 5, respectivamente. Después de administrar E. coli, el 100% de los animales con vehículo y con IL-10 mostraron ADN bacteriano en GLMs, mientras que sólo 1 de 5 (20%) lo hizo en los animales con B. infantis. Los resultados en sangre fueron paralelos en todos los casos. No se detectó traslocación de ADN de B. infantis a GLMs en ningún animal.

Conclusiones: IL-10 y B. infantis favorecen una reducción en la tasa de traslocación de ADN bacteriano en GLMs de animales con cirrosis inducida por administración de CCl₄. B. infantis se asoció, además, con una protección efectiva a corto plazo frente a la administración exógena de E. coli.

P-21. 3-NITRO-TIROSINA COMO BIOMARCADOR PERIFÉRICO DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA EN PACIENTES CIRRÓTICOS

O. González-López^a, A. Urios^b, O. Cauli^c, B. Piedrafita^d, F. Ordoño^e, C. Giménez-Garzó^{b,c}, N. Elmlili^b, R. Giner-Durán^a, M.A. Serra^f, J. Salazar^g, V. Belloch^h, V. Felipo^c y C. Montoliu^b

^aServicio de Digestivo; ^eServicio de Neurofisiología. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia. España.

^bFundación de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia. INCLIVA. Valencia. España.

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

^dFundación Grupo ERESA. Valencia. España.

^fGrupo de Hepatología. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario. Valencia. España.

^gUnidad de Psicopatología y Neurofisiología. Centro de Salud Mental de Paterna. CIBERSAM. Valencia. España.

^hGrupo ERESA. Unidad de RM. Valencia. España.

Introducción y objetivos: Los pacientes con cirrosis hepática pueden presentar encefalopatía hepática mínima (EHM) que se puede detectar utilizando un examen neuropsicológico específico. La detección temprana de la EHM sería muy útil. El "gold standard" para el diagnóstico de la EHM es la batería de tests psicométricos PHES. Sin embargo, consume tiempo y hay que ajustar la puntuación a la edad y al nivel de estudios. Sería muy útil disponer de algún biomarcador en sangre que reflejase la presencia de EHM en pacientes cirróticos. El objetivo de este trabajo ha sido la identificación de moléculas en suero que puedan ser útiles con biomarcadores de la EHM.

Métodos: Se midieron en 63 controles sanos, 43 pacientes cirróticos sin EHM y 44 pacientes con EHM, los niveles de diferentes aminoácidos, guanosina monofosfato cíclica (GMPc), nitritos + nitratos y 3-nitro-tirosina. Para cada parámetro se analizó su eficacia diagnóstica como indicador de EHM, previamente evaluado con el PHES.

Resultados: Los resultados indican que la 3-nitro-tirosina es un buen marcador para la EHM. Para validar su utilidad como biomarcador de EHM, se incluyó en el estudio un segundo grupo de 44 pacientes cirróticos sin EHM y 18 pacientes con EHM, en los que se analizaron los niveles en suero de 3-nitro-tirosina, metionina y citrulina. Los niveles de citrulina ($173 \pm 17\%$), metionina ($173 \pm 16\%$) y 3-nitro-tirosina ($857 \pm 92\%$) estaban aumentados en el suero de pacientes con EHM con respecto a los pacientes sin EHM. El análisis de las curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) de la 3-nitro-tirosina para el diagnóstico de la EHM en el primer grupo de pacientes estudiado presentaba un valor del área bajo la curva ROC de 0,96 (intervalo de confianza del 95%: 0,93-0,99). A un punto de corte de 14 nM, la especificidad era del 93%, la sensibilidad del 89% y los valores predictivos positivo y negativo eran ambos del 91%. Al aplicar este punto de corte al segundo grupo de pacientes, la especificidad era del 83% y la sensibilidad del 94%. Los valores predictivos positivo y negativo eran de 70 y 97% respectivamente.

Conclusiones: Los resultados muestran que la determinación en suero de 3-nitro-tirosina, que es sencilla y no consume mucho tiempo, es útil para identificar los pacientes con EHM, con buenos valores de sensibilidad, especificidad y buenos valores predictivos positivo y negativo.

P-22. EL PATRÓN HEMODINÁMICO DE LA CIRCULACIÓN PULMONAR ES DIFERENTE EN LOS PACIENTES CON HIPERTENSIÓN PORTOPULMONAR COMPARADO CON PACIENTES NO CIRRÓTICOS CON HIPERTENSIÓN ARTERIAL PULMONAR

M.T. Chiva^{a,b}, C. Ripoll^{a,b}, F. Sarnago^c, E. Galindo^{a,b}, D. Rincón^{a,b}, M.V. Catalina^{a,b}, J. Gómez-Camarero^{a,b}, J. Elízaga^c y R. Bañares^{a,b}

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

Introducción: La hipertensión portopulmonar (HTPP) es una arteriopatía en la microcirculación pulmonar, con lesiones plexiformes y fibrosis de la capa íntima; similar a lo que ocurre en la hipertensión pulmonar arterial (HAP). La HAP y la HTPP se definen por los mismos criterios hemodinámicos salvo la presencia de hipertensión portal en la HTPP. Sin embargo, los pacientes con cirrosis tienen alteraciones circulatorias que pueden influir en la definición de HTPP. El objetivo fue caracterizar el patrón hemodinámico de la circulación pulmonar en pacientes con y sin cirrosis.

Métodos: Estudio retrospectivo que incluye cirróticos con estudio hemodinámico hepático y sistémico entre 03.1997 y 03.2007 (n = 622, Child A 15%, B 54%, C 31%). Para comparar se incluyeron consecutivamente 120 pacientes no cirróticos con cateterismos cardíaco derecho y sin sobrecarga (PCP < 20 mmHg). Los pacientes se dividieron en 3 grupos. Grupo A: sin hipertensión pulmonar. Grupo B: PMAP = 25 mmHg, PCP < 15 mmHg y/o gradiente transpulmonar (GTP) = 12 mmHg, RVP 120-240 din.s.cm⁻⁵. Grupo C: los mismos criterios que grupo B excepto RVP = 240 din.s.cm⁻⁵ (HTPP/HAP). Los datos se describen con medianas (rangos intercuartílicos) o proporciones.

Resultados: Entre los cirróticos 11 (1,8%) tenían HTPP (grupo C), grupo A 604 y grupo B 7. No hubo diferencias significativas en la función hepática. Entre los no cirróticos, 18 (15%) pacientes con HAP (grupo C), con grupo A 93 y grupo B 9. Como era esperable, los pacientes cirróticos presentaron circulación hiperdinámica con mayor GC y menor RVS que no cirróticos (tabla). No obstante, los pa-

	Grupo	Con cirrosis (n = 622)	Sin cirrosis (n = 120)
PMAP (mmHg)	A	14,0 (11,5-18,0)	21,0 (16,5-23,5)
	B	29,0 (27,8-29,8)	30,5 (28,0-33,5)
	C	42,5 (37,8-51,0)	39,0 (29,0-45,5)
PCP (mmHg)	A	8,5 (6,0-11,5)	14,0 (11,0-15,5)
	B	11,5 (11,0-15,0)	16,0 (14,0-17,5)
	C	10,0 (4,0-11,0)	12,0 (8,0-16,5)
GTP (mmHg)	A	6,0 (4,0-7,0)	7,0 (5,0-9,0)
	B	16,0 (13,7-17,3)	15,0 (13,5-16,5)
	C	35,0 (29,0-43,5)	23,5 (19,5-34,5)
RVP (dyn.s.cm ⁻⁵)	A	61 (45,86)	103,2 (66,3-137,6)
	B	155 (138-165)	193,2 (167,4-215,2)
	C	356 (296-567)	378,7 (310,5-501,4)
RVS (dyn.s.cm ⁻⁵)	A	843 (654-1.096)	1.191 (932-1.525)
	B	784 (567-1.131)	1.013 (751-1.675)
	C	898 (723-1.212)	1.241 (1.014-1.819)
GC (l/min)	A	7,1 (5,7-8,8)	5,2 (4,5-6,2)
	B	8,8 (6,8-9,6)	6,5 (5,2-8,5)
	C	6,6 (5,1-7,5)	5,0 (4,5-6,0)
PAD (mmHg)	A	5,0 (3,0-7,0)	8,0 (6,0-10,0)
	B	7,4 (5,5-9,0)	12,0 (6,5-14,5)
	C	6,3 (2,0-8,0)	10,0 (6,5-12,1)

cientes con HTPP tuvieron similares RVP que los no cirróticos del grupo C, aunque con una diferencia significativa de GTP [8,9 (17,2-0,3) mmHg; p = 0,043].

Conclusiones: El GTP es mayor en la HTPP que la HAP, con RVP similar y menor RVS. Las características hemodinámicas de los pacientes con cirrosis pueden influir en el diagnóstico de HTPP por lo que criterios específicos pueden ser necesarios.

P-23. OBTENCIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES DE MÉDULA ÓSEA AUTÓLOGA EN PACIENTES CON CIRROSIS AVANZADA PARA SU POSTERIOR USO TERAPÉUTICO

V. Fernández-Ruiz^a, D. d'Avola^{b,c}, M. Méndez^a, S. Carrillo^a, F. Prosper^d, J. Pérez-Calvo^d, E. Andreu^d, S. Varea^d, J.I. Herrero^{b,c}, M. Iñarrairegui^{b,c}, B. Sangro^{b,c}, J. Prieto^{a,b,c} y J. Quiroga^{b,c}

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

^bCIBERehd.

^cUnidad de Hepatología; ^dÁrea de Hematología y Terapia Celular. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: Las células progenitoras endoteliales (EPC) medulares y circulantes, son reclutadas en los tejidos dañados por su actividad regenerativa y reparadora tisular. Por su capacidad de producir citoquinas hepatoprotectoras, antifibrogénicas y proangiogénicas (IGF-I, VEGF, HGF, SDF-1), las EPC se han empleado en modelos experimentales de hepatopatías agudas y crónicas. Se ha estudiado la posibilidad de aislar y diferenciar EPC en cultivo a partir de células mononucleares (MNC) de médula ósea de pacientes cirróticos para su posterior uso terapéutico en la cirrosis avanzada.

Métodos: Se aislaron MNC de 6 pacientes cirróticos y 4 individuos sanos a partir de sangre medular obtenido por punción en cresta iliaca. Las MNC se cultivaron durante 7 días en un medio basal en-

dotelial EBM-2 (research grade) o LiStar (GMP grade) suplementado con plasma medular autólogo, rhVEGF, bFGF, rhIGF-I, rhEGF e hidrocortisona. Tras el cultivo y la selección, se analizaron los marcadores de superficie (CD133, CD34, CD117, VEGFR-2, CD31 y vWF) y la funcionalidad de las EPC (captación de LDL acetilado-aCLDL- y la unión de lectina Ulex) por citometría de flujo. Los factores de hepatoprotección HGF, VEGF, IGF-1, IL-6, EGF, SDF-1 y CT-1 se determinaron por ELISA en los sobrenadantes celulares del día 7º tras ser privados de plasma y factores de diferenciación durante 48h.

Resultados: La mediana de MNC obtenidas por ml de médula ósea fue similar en los individuos sanos y en pacientes cirróticos [2,8 × 10⁶ (rango 2,1-10,5 × 10⁶) vs 1,4 × 10⁶ (rango 0,6-12,7 × 10⁶) MNC/ml; p ns]. La medula de los pacientes cirróticos, con respecto a los individuos sanos, muestra más células progenitoras (CD133+ 12% vs 2%; CD34+ 7% vs 2%), monocitos (CD14+ 14% vs 6%) y células de origen endotelial (VEGFR-2+ 14% vs 4%; CD90+ 17% vs 4%; vWF+ 79% vs 0%). Tras el cultivo, el número y la morfología de las EPC fue similar en los dos grupos [3,7 × 10⁵ (rango 0,3-4,2 × 10⁵) vs 3,8 × 10⁵ (rango 0,4-6,4 × 10⁵) EPC/ml; p ns]. Las EPC de pacientes cirróticos, respecto a los individuos sanos, mostraron una mayor expresión de CD133 (16% vs 0%) y mayor funcionalidad endotelial (captación de aCLDL 75% vs 26% y unión de lectina Ulex 83% vs 66%). La producción de IGF-1 y SDF-1 fue similar en ambos grupos, mientras que la producción de HGF [1841 (959-2.809) vs 935 (829-1.041) pg/ml], VEGF [1.459 (978-2.749) vs 0 pg/ml] e IL-6 [116 (7-411) vs 1 (1-2) pg/ml] fue mayor en pacientes cirróticos que en los sanos.

Conclusiones: Es posible obtener EPC funcionalmente activas, en condiciones GMP, a partir de médula ósea autóloga de pacientes cirróticos. Estas células podrían ser usadas terapéuticamente en la cirrosis avanzada.

P-24. UTILIDAD DE LA METFORMINA EN LA PREVENCIÓN DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA CLÍNICA: ESTUDIO OBSERVACIONAL RETROSPECTIVO

J. Ampuero, M. Maraver, R. Aparcero, C. Cano, A. Rojas, M. Millán, R. Gallego-Durán, I. Camacho, B. Figueruela, E. Suárez, E. Hoyas y M. Romero-Gómez

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

Objetivos: Evaluar el impacto sobre el desarrollo de encefalopatía hepática (EH) del uso de metformina en una cohorte de pacientes con cirrosis bien caracterizada desde el punto de vista de la encefalopatía hepática mínima mediante sobrecarga oral de glutamina (SOG), test psicométricos (PHES), test neurofisiológicos (frecuencia crítica de parpadeo, CFF) y mutaciones en el gen de la glutaminasa.

Métodos: Se incluyeron 198 pacientes cirróticos, el 46.5% de etiología alcohólica y el 37,4% por VHC, siendo otras causas el 16,2%; 141 hombres y 57 mujeres, con una edad media de 57 ± 11 años. La función hepática se evaluó mediante Child-Pugh (6,2 ± 1,5) y MELD (10 ± 4). Los pacientes se clasificaron como tratados con sensibilizadores de insulina (metformina con o sin pioglitazona) (n = 46); cirróticos con diabetes mellitus tipo 2, tratados con insulina (n = 25); y no diabéticos o diabéticos en tratamiento dietético (n = 126). El tiempo de uso de metformina fue 35,5 ± 26,6 meses. Las características basales incluyeron: insulina, glucosa, glucagón, leptina, adiponectina, IL-6, AST y ALT, además de HOMA-IR. El haplotipo TACC fue obtenido. EHM fue medida por tests psicométricos o por frecuencia crítica de parpadeo. SOG se consideró alterada si > 128 µg/dL. El end-point primario fue EH. Los end-points secundarios fueron exitus y trasplante hepático. Para el análisis univariante empleamos el método Kaplan Meier y para el análisis multivariante la regresión de Cox.

Resultados: Desarrollaron EH el 24,7% (49/198) en 41 + 24 meses de seguimiento: 31,8% (48/152) en pacientes no tratados y 2,2% (1/46) en tratados con metformina. La combinación SOG alterada y EHM se asoció con un riesgo aumentado de desarrollar EH 52% (10/19) frente al 18% (11/60) (log rank 8,15; $p = 0,014$); así como el haplotipo protector TACC 19% (16/84) frente al 43% (28/65) (log rank 11,37; $p = 0,001$). En análisis univariante, el uso de metformina disminuyó el riesgo de EH (log rank 13,35; $p = 0,000$), redujo la necesidad de trasplante (log rank 5,1; $p = 0,024$) y mejoró la supervivencia (log rank 4,3; $p = 0,038$). En el análisis multivariante mediante regresión de Cox, el uso de metformina [HR 10,27 (IC95%: 1,4-75,24); $p = 0,022$], la edad al diagnóstico [HR 1,05 (IC95%: 1,02-1,08); $p = 0,001$], Child-Pugh [HR 1,30 (IC95%: 1,04-1,63); $p = 0,022$] y el índice MELD [HR 1,13 (IC95%: 1,04-1,24); $p = 0,005$] se asociaron independientemente con EH. Analizamos el uso de metformina en una cohorte de pacientes en estadio A de Child-Pugh ($n = 135$) (metformina [HR 9,3 (IC95%: 1,21-71,66); $p = 0,032$], HOMA-IR [HR 1,14 (IC95%: 1,03-1,27); $p = 0,014$], Child-Pugh [HR 0,25 (IC95%: 0,06-0,98); $p = 0,046$] y MELD [HR 1,24 (IC95%: 1,04-1,49); $p = 0,017$] se asociaron independientemente con el desarrollo de EH.

Conclusiones: El uso de metformina parece ser protector contra el desarrollo de encefalopatía hepática en pacientes cirróticos. Sería necesario realizar un ensayo clínico aleatorizado doble ciego frente a placebo para confirmar estos resultados.

P-25. LA ADMINISTRACIÓN PROLONGADA DE MIDODRINA Y ALBÚMINA NO MEJORA LA FUNCIÓN RENAL NI CIRCULATORIA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA E INSUFICIENCIA RENAL FUNCIONAL MODERADA. ESTUDIO DE PRUEBA DE CONCEPTO

E. Rodríguez, G. Pereira, M. Guevara, C. Fagundes, E. Solà, R. Barreto, F. Campos, J. Fernández, V. Arroyo y P. Ginès

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

Introducción: El tratamiento del síndrome hepatorenal consiste en la administración de un vasoconstrictor, en especial terlipresina, junto con albúmina. La base racional del tratamiento consiste en mejorar el volumen arterial efectivo a través de la vasoconstricción esplácnica asociada a la administración de albúmina.

Objetivos: El objetivo del presente estudio consistió en aplicar esta misma base racional pero utilizando midodrina, un vasoconstrictor alfa-adrenérgico activo por vía oral. Se realizó un estudio como prueba de concepto para analizar si este tratamiento es eficaz en pacientes con cirrosis e insuficiencia renal moderada de tipo funcional.

Métodos: Se estudió de forma prospectiva un grupo de 7 pacientes con cirrosis, ascitis e insuficiencia renal funcional moderada y estable, sin otras complicaciones de la enfermedad. El tratamiento con midodrina se administró durante 12 semanas, junto con albúmina (40 g ev cada 2 semanas). La dosis inicial de midodrina fue de 5 mg/8h, por vía oral, pudiendo aumentarse a 10 mg/8h a partir del día 7 si la presión arterial media no aumentaba = 10 mmHg. Tanto la función renal como la función circulatoria se midieron mediante métodos muy sensibles. En condiciones basales, al mes y a los 3 meses se midió en todos los pacientes el filtrado glomerular mediante técnica con radioisótopos (^{51}Cr -EDTA). La función circulatoria se midió mediante la determinación de la presión arterial y la actividad de los sistemas vasoconstrictores endógenos (renina, aldosterona y nervioso simpático) como estimación del efecto del tratamiento sobre el volumen arterial efectivo.

Resultados: En condiciones basales los pacientes presentaban insuficiencia renal moderada y datos indicativos de hipovolemia arterial efectiva. El tratamiento con midodrina y albúmina durante

12 semanas no produjo ninguna mejoría significativa de la función circulatoria y renal. Los valores siguientes corresponden a determinaciones basales, semana 4 y semana 12 respectivamente ($p = \text{NS}$ para todos los valores): presión arterial media ($85 \pm 13/85 \pm 7/88 \pm 14$ mmHg); frecuencia cardíaca ($66 \pm 10/63 \pm 10/62 \pm 9$ lpm); actividad renina plasmática ($5,4 \pm 4/6,4 \pm 5,2/4,5 \pm 3,4$ ng/ml.h); concentración plasmática de noradrenalina ($585 \pm 224/507 \pm 195/555 \pm 151$ pg/mL); vasopresina ($2,8 \pm 1,1/3,4 \pm 2/3,8 \pm 2$ ng/L); creatinina plasmática ($1,3 \pm 0,3/1,4 \pm 0,3/1,4 \pm 0,3$ mg/dL); filtrado glomerular ($43 \pm 10/45 \pm 12/47 \pm 10$ mL/min/1,73 m²); excreción urinaria de sodio ($74 \pm 20/67 \pm 35/60 \pm 43$ mEq/L); sodio plasmático ($136 \pm 4/135 \pm 2/135 \pm 2$ mEq/L). La puntuación de MELD no varió durante el tratamiento (14 ± 4 vs 14 ± 3). La administración del tratamiento no produjo ningún efecto adverso grave. Tan sólo hubo que disminuir la dosis en un paciente en la semana 4 por presencia de epigastralgia inespecífica.

Conclusiones: El tratamiento con midodrina y albúmina, a las dosis administradas, en pacientes con cirrosis, ascitis e insuficiencia renal funcional moderada no mejora la función renal ni circulatoria. La midodrina no parece ser un vasoconstrictor oral lo suficientemente potente como para ser utilizado en el tratamiento de las alteraciones de función renal en la cirrosis.

P-26. EL LIPOPOLISACÁRIDO BACTERIANO (LPS) INHIBE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR CB2 EN MONOCITOS HUMANOS

V. Reichenbach^a, J. Ros^a, J. Muñoz-Luque^a, M. Morales-Ruiz^a, M. Navasa^b y W. Jiménez^{a,c}

^a*Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. IDIBAPS. CIBERehd. Hospital Clínic de Barcelona. España.*

^b*Unidad de Hígado. IDIBAPS-CEK. CIBERehd. Hospital Clínic de Barcelona. España.*

^c*Universidad de Barcelona. España.*

Introducción: Los endocannabinoides son una familia de sustancias con una amplia variedad de efectos fisiológicos relacionados con la fibrogénesis, vasodilatación e inflamación. Se han descrito dos tipos diferentes de receptores de endocannabinoides que median estos efectos, el CB1 y el CB2. El último, se localiza en las células del sistema inmune y es el responsable de los efectos antiinflamatorios producidos por los endocannabinoides. Los pacientes cirróticos tienen una mayor susceptibilidad de sufrir infecciones bacterianas, hecho asociado a la alteración de los mecanismos de defensa ante la presencia de agentes patógenos. En el presente estudio, consideramos la posibilidad que la alteración en la expresión génica del receptor CB2 en células monocíticas de pacientes cirróticos, podría estar vinculada a la patogénesis de este fenómeno.

Métodos: Para cerciorarnos de que los productos derivados de la pared bacteriana modulan la expresión de CB2 en monocitos humanos, se analizaron los cambios inducidos por el LPS (10 ng/ml y 1 µg/ml) sobre la expresión del RNAm y proteínas en una línea celular de monocitos humanos (U937) mediante PCR a tiempo real y Western blot, respectivamente. Para evaluar el significado de los cambios inducidos por el LPS sobre la expresión de CB2, se llevaron a cabo experimentos de migración celular utilizando como quimioatrayentes la anandamida (AEA, 1 µM) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG, 1 µM), en presencia o no de LPS. Para comprobar si el LPS era el responsable directo de los efectos observados, se utilizó polimixina B (PMB) para bloquear la unión de LPS a su receptor. Finalmente, para determinar la relevancia clínica de los resultados obtenidos, la expresión del RNAm se analizó en monocitos periféricos aislados a partir del suero de pacientes y de macrófagos peritoneales aislados del líquido ascítico de pacientes cirróticos, con o sin peritonitis bacteriana espontánea (SBP).

Resultados: La exposición de las células U937 a LPS resultó en una disminución de la expresión del RNAm y proteína de CB2 de manera dosis-dependiente. Los ligandos endógenos, AEA y 2-AG, produjeron un aumento significativo de la migración celular, este efecto fue revertido en presencia de LPS. Los resultados con PMB indican que el bloqueo directo de LPS revierte los efectos producidos por el mismo, observando la recuperación de los niveles de RNAm de CB2. Los monocitos circulantes de pacientes cirróticos presentaban una disminución de la expresión del RNAm de CB2 comparado con sujetos sanos. Además, se encontraron niveles muy bajos de este transcrito en los macrófagos peritoneales de pacientes cirróticos con ascitis, y prácticamente estaban suprimidos en pacientes con SBP.

Conclusiones: Estos resultados muestran que el LPS inhibe la expresión del receptor CB2 en células monocíticas humanas y sugiere que el sistema endocannabinoide podría estar involucrado en la patogenia de la alteración de los mecanismos de defensa ante patógenos.

P-27. LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE VSL#3 DISMINUYE LA TRANSLOCACIÓN BACTERIANA Y EL ESTADO PROINFLAMATORIO EN RATAS CON CIRROSIS EXPERIMENTAL

E. Sánchez Ardid^a, A.M. Boullosa^a, J.C. Nieto^b, S. Vidal^b, B. Mirelis^c, C. Juárez^b, G. Soriano^a y C. Guarner^a

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd). Servicio de Patología Digestiva. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau. Barcelona. España.

^bServicio de Inmunología; ^cServicio de Microbiología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

Introducción: Los probióticos pueden ser útiles en la prevención de la traslocación bacteriana (TB) y la modulación de la respuesta inflamatoria en la cirrosis.

Objetivos: Evaluar el efecto de la administración oral de un combinado de probióticos (VSL#3) sobre la flora intestinal, la TB y la respuesta inflamatoria en la cirrosis experimental.

Métodos: Modelo de cirrosis por administración de fenobarbital y CCl4 por sondaje gástrico en ratas Sprague-Dawley. Las ratas cirróticas se aleatorizaron en dos grupos: grupo 1 (n = 22), recibió VSL#3 en agua de bebida desde la semana 6 de inducción de cirrosis hasta la laparotomía, practicada una semana después de desarrollar ascitis o a la semana 20, y grupo 2 (n = 24), recibió agua. Once ratas sanas fueron grupo control (grupo 3). Se evaluó la mortalidad y la aparición de ascitis durante el estudio, la flora intestinal, la incidencia de TB y los niveles séricos de TNF α y la ratio TNF α /IL-10 al final del estudio.

Resultados: La mortalidad durante el estudio fue 10/22 (45%) en el grupo 1 y 10/24 (42%) en el grupo 2 (p NS). La probabilidad de desarrollar ascitis a la semana 20 fue 51% en el grupo 1 y 100% en el grupo 2 (p = 0,02). La concentración de enterobacterias cecales fue superior en los grupos 1 y 2 respecto al grupo 3 (p = 0,007), pero similar entre los grupos 1 y 2 (p NS). La incidencia de TB fue 1/12 (8%) en el grupo 1, 7/14 (50%) en el grupo 2 (p = 0,03 respecto al grupo 1) y 0/11 en el grupo 3 (p = 0,008 respecto al grupo 2). Los niveles séricos de TNF α y la ratio TNF α /IL-10 fueron inferiores en el grupo 1 respecto al grupo 2 (p < 0,05).

Conclusiones: La administración oral de VSL#3 disminuye la aparición de ascitis, la TB y el estado proinflamatorio sin producir cambios en la concentración de enterobacterias intestinales en las ratas con cirrosis experimental.

P-28. TRASLOCACIÓN DE ADN BACTERIANO AL HÍGADO DURANTE LA PROGRESIÓN DE CIRROSIS EXPERIMENTAL. RELACIÓN CON EL AUMENTO DE NORADRENALINA HEPÁTICA

P. Zapater^{a,b}, I. Gómez-Hurtado^{a,b}, G. Peiró^c, J.M. González-Navajas^{a,b}, M. Pérez-Mateo^b, J. Such^{a,b} y R. Francés^{a,b}

^aCIBERehd.

^bUnidad Hepática; ^cUnidad de Investigación. Hospital General Universitario de Alicante. España.

Introducción: Los pacientes con cirrosis descompensada muestran una activación del sistema nervioso simpático (SNS). Se ha demostrado en ratas que el SNS ejerce un papel inmunosupresor sobre la actividad inmunitaria del huésped. Nosotros hemos demostrado que la incidencia de traslocación de ADN bacteriano (ADNbact) aumenta durante la inducción de cirrosis experimental y, por tanto, nuestra hipótesis es que el SNS debe estar hiperactivado en el hígado de estos animales, favoreciendo la progresión de la fibrosis y la traslocación de ADNbact. Para evaluar esto, se estudió la actividad inmunitaria y la presencia de ADNbact en el hígado de ratones control y tratados con tetracloruro de carbono (CCl4) a lo largo de la inducción progresiva de daño hepático.

Métodos: Se indujo daño hepático en ratones Balb/c durante 16 semanas mediante administración oral de CCl4 dependiente del peso. Se realizaron laparotomías en las semanas 6, 10, 13 y 16 en un subgrupo de ratones tratados con CCl4 (n = 6/semana) y animales control (n = 4/semana). Se evaluó el grado de fibrosis hepática mediante histología y niveles de expresión de genes profibrogénicos, así como la traslocación de ADNbact, niveles de citocinas, noradrenalina (NE) y receptores alfa y beta adrenérgicos en el hígado.

Resultados: Se confirmó la progresión de la fibrosis mediante hallazgos histológicos y niveles de expresión cuantitativa de genes profibrogénicos en el hígado. El ADNbact estuvo presente en el hígado del 16% (semana 6), 16% (semana 10), 66% (semana 13) y 66% (semana 16) de los animales tratados, pero en ningún animal control. Los niveles más altos de TNF-alfa y de IL-6 en el hígado de los animales tratados correspondieron a la semana 10 (TNF-alfa 40,1 \pm 11,8 pg/mL vs 19,8 \pm 2,1 pg/mL en controles; IL-6 52,7 \pm 5,3 pg/mL vs 17,1 \pm 4,4 pg/mL en controles). Además, los valores de TNF-alfa e IL-6 fueron significativamente más elevados en ratones con ADNbact en el hígado (TNF-alfa: 54,8 \pm 2,3 pg/mL vs 32,6 \pm 3,5 pg/mL en ADNbact- en la semana 10; IL-6: 56,3 \pm 5,4 pg/mL vs 51,0 \pm 5,0 pg/mL en ADNbact- en la semana 10). Los niveles de NE en el hígado fueron superiores en animales tratados frente a controles a lo largo del estudio. Se observó un aumento significativo de los niveles de NE hepática en las semanas 13 y 16 en animales con traslocación de ADNbact en el hígado (311,3 pg/mL \pm 130,2 vs 80,9 \pm 22,0 pg/mL en ADNbact- en la semana 13; 452,0 \pm 95,4 pg/mL vs 30,81 \pm 16,0 pg/mL en ADNbact- en la semana 16). Los niveles más altos de NE coincidieron con los niveles más bajos de TNF-alfa e IL-6. Los niveles de expresión génica de los receptores alfa-1 adrenérgicos se mantuvieron constantes y significativamente más elevados en animales tratados que en controles, mientras que los receptores alfa-2 adrenérgicos mostraron un aumento significativo en animales tratados en las semanas 13 y 16. La presencia de ADNbact en el hígado estuvo asociada a un aumento significativo de los niveles de receptores alfa-2 adrenérgicos en la semana 16, coincidiendo con los niveles más altos de NE. Los receptores beta adrenérgicos no mostraron diferencias entre animales tratados y control ni tampoco en función de la presencia de ADNbact a lo largo de todo el estudio.

Conclusiones: La inflamación hepática inducida por CCl4 está limitada por una sobreexpresión de NE y receptores presinápticos alfa-2 adrenérgicos, lo cual puede facilitar la traslocación de ADNbact en el hígado.

P-29. EL PARKINSONISMO AXIAL Y EL DÉFICIT COGNITIVO SE ASOCIAN A CAÍDAS EN LOS PACIENTES CON CIRROSIS

E. Román^{a,b}, G. Soriano^{a,b,c}, R. Fernández-Bobadilla^{b,d}, S. Martínez^{b,d}, J. Pagonabarraga^{e,f}, J. Díaz-Manera^{e,f}, J. Riba^{b,g}, F. Núñez^{b,h}, B. Gómez^b, J. Córdoba^{c,i}, M. Barbanjo^{b,d,g}, J. Kulisevsky^{b,e,f} y C. Guarner^{a,b,c}

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

^bInstitut d'investigació Biomèdica Sant Pau. Barcelona. España.

^cCIBERehd.

^dCIM (Centre d'Investigació del Medicament). Barcelona. España.

^eCIBERNed.

^fServicio de Neurología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

^gCIBERSam.

^hServicio de Neuroradiología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

ⁱDepartament d'Hepatologia. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: La alteración en el Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (PHES) es un factor predictivo de caídas en los pacientes con cirrosis. Se desconocen los mecanismos precisos por los que caen estos pacientes aunque podrían estar relacionados con diversas alteraciones neurológicas (parkinsonismo, deterioro cognitivo, ataxia, neuropatía).

Objetivos: Evaluar las alteraciones neurológicas y su relación con las caídas en los pacientes con cirrosis.

Métodos: Inclusión de 20 pacientes cirróticos (10 con antecedente de caídas durante el año previo y 10 sin caídas). La función cognitiva global se evaluó mediante el PHES, Mini Mental test y la Parkinson's Disease-Cognitive Rating Scale (PD-CRS) y otras pruebas neuropsicológicas específicas para la valoración más detallada de los diferentes dominios cognitivos: lenguaje, atención, función visuoespacial-visuoconstructiva, memoria y función ejecutiva. Los signos extrapiramidales se analizaron mediante el Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) Parte III. Se analizaron otras variables neurológicas (ataxia [ICARS], fuerza muscular [CRM], electromiograma, RM cerebral) y no neurológicas (características clínico-demográficas, índice de masa corporal [IMC], agudeza visual) que también podrían estar implicadas en las caídas.

Resultados: A nivel cognitivo global, los pacientes con caídas mostraron una peor puntuación del PHES que los pacientes sin caídas ($-4,3 \pm 0,7$ vs $-0,3 \pm 0,9$, $p = 0,007$) y puntuaciones más bajas en la PD-CRS, ($69,5 \pm 17,2$ vs $78,2 \pm 10,4$, $p = 0,11$) y el Mini Mental test ($25,8 \pm 3,4$ vs $28,3 \pm 0,8$, $p = 0,09$) que no fueron significativas. Los dominios cognitivos más afectados fueron: las funciones ejecutivas ($p = 0,06$), la atención ($p = 0,03$) y especialmente la función visuoespacial-visuoconstructiva ($p = 0,01$). El 70% de los pacientes que habían caído vs el 40% de los que no, presentaban signos extrapiramidales (UPDRS Parte III = 3) ($p = 0,05$). Además, la rigidez de la marcha (ítems 29-33 del UPDRS Parte III) se vio más afectada en los pacientes con caídas ($2,7 \pm 0,8$ vs $0,4 \pm 0,2$, $p = 0,02$). No se observaron diferencias en el resto de parámetros evaluados.

Conclusiones: Las caídas en los pacientes con cirrosis se relacionan con la presencia de parkinsonismo axial o atípico y déficit cognitivos, especialmente en atención y función visuoespacial-visuoconstructiva.

P-30. EL ÍNDICE MELD-NA ES UN BUEN PREDICTOR DE MORTALIDAD EN PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA. VALIDACIÓN PROSPECTIVA

J. Castellote, X. Ariza, C. Solé, S. Salord, C. Baliellas, R. Rota y X. Xiol

Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático. Servicio de Aparato Digestivo. IDIBELL. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. España.

Introducción: El índice de MELD-Na está compuesto por cuatro variables, creatinina, bilirrubina, INR y sodio. Todas ellas se han descrito como predictoras de supervivencia en pacientes con ascitis o peritonitis bacteriana espontánea (PBE).

Objetivos: Validar prospectivamente en una población diferente a la de cálculo el valor del MELD-Na como predictor de mortalidad a corto plazo en pacientes cirróticos con PBE.

Métodos: En una cohorte de 134 episodios de pacientes con PBE se practicó un análisis univariante y multivariante de factores pronósticos de mortalidad intrahospitalaria. Se ha validado el resultado del análisis en una muestra diferente de episodios de PBE, 75 episodios consecutivos recogidos durante los años 2008-2009.

Resultados: En la muestra de cálculo, el análisis multivariante identificó la urea, la bilirrubina y el Na como variables con valor predictivo independiente. En un segundo modelo en la que introducimos el MELD-Na y eliminamos las variables necesarias para su cálculo para evitar colinealidad, el MELD-Na resultó ser la única variable con valor predictivo independiente. En una curva ROC, el área bajo la curva (ABC) del MELD-Na fue de 0,851 (IC95%; 0,771-0,930). En la serie de validación el MELD-Na presentaba un área bajo la curva de 0,826 (0,717-0,935). En las dos muestras juntas ($N = 210$), el ABC del MELD-Na fue 0,837 (0,771-0,902). El 48,6% de la muestra presentaba un MELD-Na < 24 y una mortalidad del 8%, el 35% un MELD-Na < 21 y una mortalidad del 6% y un 31% de la muestra tenía un MELD-Na < 20 y una mortalidad del 4%.

Conclusiones: El índice MELD-Na es un factor pronóstico con valor predictivo independiente en pacientes cirróticos con peritonitis bacteriana espontánea y ha sido validado prospectivamente con una muestra independiente. Este índice de fácil obtención permite estratificar a los pacientes y seleccionar grupos de población según el riesgo de mortalidad intrahospitalaria.

P-31. USO PRECOZ DE TIPS EN LA HEMORRAGIA POR VARICES EN PACIENTES CIRRÓTICOS DE ALTO RIESGO. RESULTADOS DE UN ESTUDIO DE VIGILANCIA POST-ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO

M. Di Pascoli^a, J.C. García-Pagán^a, K. Caca^b, W. Laleman^c, C. Bureau^d, B. Appenrodt^e, A. Luca^f, A. Zipprich^g, J.G. Abraldes^a, F. Nevens^c, J.P. Vinel^d y J. Bosch^a

^aLaboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBEREHD. Universitat de Barcelona. España.

^bMedizinische Klinik I. Klinikum Ludwigsburg. Ludwigsburg. Alemania.

^cDepartment of Hepatology. University Hospital Gasthuisberg. Katholieke Universiteit Leuven. Leuven. Bélgica.

^dService d'Hépatogastroentérologie. Centre Hospitalier Universitaire de Purpan. Toulouse. Francia.

^eMedical Department I. University of Bonn. Bonn. Alemania.

^fIstituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione. Palermo. Italia.

^gInnere Medizin I. Martin Luther University. Halle-Wittenberg. Alemania.

Introducción: En un reciente estudio clínico aleatorizado (ECA) internacional, en pacientes cirróticos con hemorragia aguda por

várices y alto riesgo de fracaso terapéutico, el tratamiento precoz con TIPS-PTFE se asocia a una marcada y significativa reducción en el riesgo de fracaso terapéutico, recidiva hemorrágica y en la mortalidad a corto y largo plazo en comparación al tratamiento estándar. El objetivo del presente estudio fue evaluar si estos excelentes resultados se reproducen en la práctica clínica fuera de ECA.

Métodos: Revisión retrospectiva de pacientes ingresados por hemorragia aguda de várices y alto riesgo de fracaso terapéutico (Child C < 14 o Child B con sangrado activo) después de la inclusión del último paciente en el ECA, en los mismos centros del estudio ECA original. Todos los pacientes tratados con TIPS precoz fueron incluidos (n = 45); los pacientes que recibieron tratamiento médico y endoscópico se incluyeron hasta el momento en que el hospital adoptó la estrategia de utilizar el TIPS precoz en su práctica clínica (n = 30).

Resultados: El TIPS precoz se realizó dentro de las 24 horas tras el ingreso en 28 pacientes; 24-48h en 11 y 48-72h en 6. No hubo diferencias en las características basales de los pacientes tratados con TIPS o fármacos + tratamiento endoscópico. El seguimiento mediano fue de 11,2 meses. Los pacientes tratados con TIPS precoz tuvieron una menor incidencia de fracaso en el control de la hemorragia o en su recidiva (3 vs 15 en el grupo médico; p < 0,001). La probabilidad actuarial al año de permanecer libre de este evento fue del 93% vs 53% (p < 0,001). Lo mismo se observó en la mortalidad (a 1 año la supervivencia actuarial era del 86% vs 70% respectivamente (p = 0,056). Más importante aún, las curvas actuariales de fracaso del control de la hemorragia + recidiva y de supervivencia en este estudio observacional fueron similares a las observadas en el ECA.

Conclusiones: En centros expertos, la aplicación del uso precoz de TIPS en pacientes cirróticos con hemorragia aguda por várices y alto riesgo de fracaso terapéutico ofrece resultados similares a los observados anteriormente en el ECA, apoyando su uso en la práctica clínica.

P-32. UNA ESTRATEGIA DIAGNÓSTICA SIMPLE BASADA EN VARIABLES CLÍNICAS Y ELASTOGRAFÍA PARA DETECTAR HIPERTENSIÓN PORTAL INICIAL EN PACIENTES ASINTOMÁTICOS CON ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA

L. Badia Cebada^a, S. Augustin^a, L. Millán^a, A. González^a, A. Romero^b, A. Gelabert^b, A. Segarra^b, R. Esteban^a y J. Genescà^a

^aServicio de Hepatología; ^bRadiología Intervencionista. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: Detectar pacientes en fases iniciales de la hipertensión portal es importante para su pronóstico y para la selección de pacientes para estudios intervencionales.

Objetivos: Evaluar una estrategia diagnóstica basada en datos clínicos y elastografía de transición (medida indirecta de fibrosis) para detectar hipertensión portal en pacientes asintomáticos con enfermedad hepática crónica.

Métodos: Pacientes consecutivos con enfermedad hepática crónica y función hepática normal fueron evaluados mediante elastografía. Los pacientes con diagnóstico previo de hipertensión portal fueron excluidos. Se clasificaron en 3 grupos: plaquetas = 150.000 y ecografía normal (Grupo A), plaquetas < 150.000 y ecografía normal (Grupo B) y plaquetas < 150.000 y ecografía anormal con esplenomegalia y/o hígado nodular (la presencia de circulación colateral fue un criterio exclusión). Los pacientes con una rigidez hepática = 13,6 kPa fueron evaluados mediante gastroscopia y se midió el gradiente de presión venosa hepática (GPVH).

Resultados: Se evaluaron 240 pacientes (56% mujeres, edad media 57 ± 13, hepatitis C 84%): 167 (70%) se incluyeron en el grupo A, 48 (20%) en el grupo B y en el grupo C 25 (10%). No se obtuvo valor de elastografía en 21 (9%), quedando un total de 219 pacientes

para el estudio. Se detectó una rigidez = 13,6 kPa en 50 pacientes (23%): 9% del grupo A, 42% del grupo B y 79% del grupo C (p < 0,001). Se practicó gastroscopia en 41 de los 50 pacientes con rigidez = 13,6 kPa (11 grupo A, 13 grupo B, 17 grupo C): el 83% no tenían varices esofágicas y el 17% restante varices pequeñas (grado 1); 6 de los 7 pacientes con grado 1 eran del grupo C. Ningún paciente del grupo A tenía varices esofágicas. El GPVH se obtuvo en 34 pacientes: el 90% tenían hipertensión portal (GPVH > 5 mmHg) y el 65% hipertensión portal significativa (GPVH = 10 mmHg). Sólo 3 pacientes tuvieron GPVH < 5 mmHg y todos ellos pertenecían al grupo A. Todos los pacientes de los grupos B y C con una rigidez = 13,6 kPa tenían hipertensión portal. El 45% de los 50 pacientes tenían una rigidez > 20 kPa; estos pacientes presentaban hipertensión portal significativa en el 90% y varices grado 1 en el 30% (el 85% de todas las varices grado 1).

Conclusiones: Una estrategia diagnóstica simple basada en datos clínicos y elastografía es muy útil para detectar pacientes con hipertensión portal inicial (sin varices grandes) en una población de pacientes con enfermedad hepática crónica y función hepática normal.

P-33. LOS POLIMORFISMOS D299G Y T399I DE TOLL-LIKE RECEPTOR 4 Y LAS INFECCIONES BACTERIANAS EN PACIENTES CON CIRROSIS Y ASCITIS

G. Soriano^{a,b,c}, J.C. Nieto^{c,d}, E. Román^{b,c}, E. Sánchez^{a,c}, C. Guarner Argente^b, S. Vidal^{c,d}, O. Pavel^b, C. Romero^b, C. Juárez^d y C. Guarner^{a,b,c}

^aCIBERehd.

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

^cInstitut d'investigació Biomèdica Sant Pau. Barcelona. España.

^dServicio de Inmunología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

Introducción: El Toll-like receptor (TLR) 4 es de gran importancia en la respuesta inmune innata frente a patógenos, especialmente ante bacilos gramnegativos. Se ha sugerido que los polimorfismos genéticos D299G y T399I de TLR4 podrían aumentar la susceptibilidad a presentar infecciones bacterianas. No se ha estudiado de forma prospectiva si la presencia de estos polimorfismos incrementa la incidencia de infecciones en los pacientes con cirrosis.

Objetivos: Analizar prospectivamente la relación entre los polimorfismos D299G y T399I de TLR4 y la incidencia de infecciones bacterianas en pacientes cirróticos con ascitis. Pacientes y métodos: Se han incluido todos los pacientes cirróticos hospitalizados con ascitis desde abril del 2006 hasta junio del 2011. Se ha determinado la presencia de los polimorfismos D299G y T399I de TLR4 por secuenciación y se ha relacionado con la incidencia de infecciones en el seguimiento posterior.

Resultados: Se han incluido 258 pacientes con un seguimiento de 12,8 ± 15,0 meses. Veintiocho (10,8%) eran portadores de los polimorfismos D299G o T399I de TLR4 (grupo polimorfismos) y 230 no lo eran (grupo wild type). Las características clínicas y analíticas basales fueron similares en los dos grupos, excepto una mayor incidencia de encefalopatía previa en el grupo polimorfismos (46,4% vs 22,2%, p = 0,009). No observamos diferencias significativas entre los dos grupos en la incidencia de infecciones totales ni de los diferentes tipos de infecciones en el seguimiento. Las probabilidades de presentar infecciones al año de seguimiento fueron (grupo polimorfismos vs grupo wild-type): infecciones bacterianas totales 80% vs 70%, infecciones por bacilos gramnegativos 54% vs 46%, infecciones por cocos grampositivos 52% vs 43%, y peritonitis bacteriana espontánea 30% vs 36%. La probabilidad de mortalidad al año fue 47% en el grupo polimorfismos vs 35% en el grupo wild type (p NS).

Conclusiones: Los polimorfismos D299G y T399I de TLR4 no parecen desempeñar un papel relevante en la predisposición de los pacientes con cirrosis a presentar infecciones bacterianas

P-34. LA HIPONATREMIA ES UN FACTOR FUNDAMENTAL EN LA ALTERACIÓN DE LA CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA Y ASCITIS

E. Solà^a, M. Guevara^a, E. Rodríguez^a, R. Barreto^a, M. Pavesi^a, V. Arroyo^a, H. Watson^b y P. Ginès^a

^aCIBERehd. IDIBAPS. Departamento de Hepatología. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^bSanofi-Aventis. Barcelona. España.

Introducción: La cirrosis hepática es una enfermedad crónica que deteriora de forma importante la calidad de vida, tanto desde el punto de vista físico como mental. No obstante, no se dispone de información sobre qué factores determinan la calidad de vida en estos pacientes.

Objetivos: Evaluar los factores predictivos de calidad de vida en pacientes con cirrosis y ascitis. **Métodos:** Se analizó una serie prospectiva de 523 pacientes con cirrosis y ascitis, incluidos en 5 estudios de tratamiento de la ascitis que abarcaban todo el espectro clínico, desde pacientes con ascitis moderada hasta pacientes con ascitis refractaria. La evaluación basal de los pacientes incluyó la calidad de vida con el cuestionario de salud Medical Outcomes Study Short-Form 36 (SF-36). El cuestionario tiene 36 preguntas agrupadas en 8 dominios, que se resumen en dos componentes, físico (CF) y mental (CM).

Resultados: Los valores en todos los dominios fueron significativamente inferiores en los pacientes con cirrosis y ascitis en comparación con la población general. Se realizó un análisis univariado para determinar los factores predictivos de calidad de vida, incluyendo variables demográficas, de función hepática, renal y complicaciones de la cirrosis. En el análisis multivariado, la concentración sérica de sodio y los edemas fueron los factores predictivos independientes de calidad de vida asociados a la mayoría de dominios individuales. Otros factores predictivos independientes en algunos dominios fueron los antecedentes de encefalopatía hepática, las caídas y la etiología de la cirrosis. Los pacientes con hiponatremia (< 130 mEq/L) presentaban valores significativamente inferiores en 7 de los 8 dominios individuales respecto a los pacientes sin hiponatremia. Además, los pacientes con hiponatremia presentaban en relación a los pacientes con normonatremia valores inferiores tanto en el CF (31 ± 9 vs 37 ± 9 , $p < 0,0001$) como en el CM (43 ± 11 vs 46 ± 11 , $p = 0,02$). Los pacientes con edemas presentaban resultados significativamente inferiores en el CF (32 ± 9 vs 38 ± 9 , $p < 0,0001$), igual que los pacientes con encefalopatía hepática (31 ± 9 vs 36 ± 10 , $p < 0,0001$). Los pacientes con antecedentes de caídas tenían resultados inferiores en el CF y en el CM. Los pacientes con cirrosis alcohólica presentaban puntuaciones significativamente mejores que los pacientes con cirrosis no alcohólica en todos los dominios. Ni la edad, ni la función hepática y renal, se relacionaron de manera significativa con la calidad de vida.

Conclusiones: Los pacientes con cirrosis y ascitis presentan un deterioro importante de la calidad de vida. Los parámetros clásicos de función hepática no son predictivos de la calidad de vida. Los principales factores predictivos de una mala calidad de vida son la hiponatremia, la encefalopatía hepática, la etiología no alcohólica de la cirrosis, los antecedentes de caídas y los edemas. La hiponatremia fue la alteración que mayor relación tuvo con una mala calidad de vida de los pacientes con ascitis.

P-35. ¿ESTÁ JUSTIFICADO EL TRATAMIENTO CON TERLIPRESINA Y ALBÚMINA DE LOS PACIENTES CON SÍNDROME HEPATORRENAL TIPO 2?

E. Rodríguez, G. Pereira, M. Guevara, C. Fagundes, E. Solà, R. Barreto, M. Pavesi, V. Arroyo y P. Ginès

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

Introducción: La administración de terlipresina y albúmina constituye el tratamiento de elección del síndrome hepatorenal (SHR) tipo 1 puesto que revierte el SHR y mejora la supervivencia. No obstante, se desconoce si dicho tratamiento tiene efectos beneficiosos en los pacientes con SHR tipo 2.

Objetivos: Evaluar los efectos de la administración de terlipresina y albúmina en pacientes con SHR tipo 2.

Métodos: Se realizó un análisis de 25 pacientes con SHR tipo 2 (18 varones y 9 mujeres; edad media 55 ± 8 años; Child-Pugh 9 ± 2 ; MELD 23 ± 7) incluidos en estudios prospectivos de tratamiento del SHR. El diagnóstico de SHR se realizó en base a los criterios del Club Internacional de Ascitis. La terlipresina y la albúmina se administraron a las dosis recomendadas para el SHR tipo 1. Se analizó el efecto del tratamiento sobre la función renal, aparición de SHR-1 durante el seguimiento y supervivencia.

Resultados: Dieciséis de los 25 pacientes (64%) respondieron al tratamiento (disminución de la creatinina = 25% respecto al valor basal con un valor final $< 1,5$ mg/dL), con una reducción de la creatinina sérica media de $2,2$ mg/dL a $1,2$ mg/dL (mediana de tratamiento 6 días). Los 9 pacientes restantes no respondieron al tratamiento (creatinina media basal $2,3$ vs final $2,4$ mg/dL). De los 16 pacientes respondedores, la mayoría (12 pacientes, 75%) presentaron una recidiva del SHR al poco tiempo de suspender el tratamiento, de forma que la probabilidad de recidiva del SHR a los 30 días fue de 52% y a los 3 meses de 78%. Durante el seguimiento no se observaron diferencias entre respondedores y no respondedores en cuanto al desarrollo de SHR tipo-1 (3/16 vs 2/9, respectivamente; p , NS). A diferencia del SHR tipo 1, la respuesta al tratamiento con terlipresina y albúmina en los pacientes con SHR tipo 2 no se asoció a una mejoría en la supervivencia (probabilidad de supervivencia a los 3 meses 94% en los respondedores vs 89% en los no respondedores; p , NS).

Conclusiones: El tratamiento con terlipresina y albúmina mejora la función renal en un elevado porcentaje de pacientes con SHR tipo 2. No obstante, la mejoría de la función renal es transitoria en la mayoría de los casos. Además, la mejoría de la función renal no parece asociarse a efectos beneficiosos en cuanto a prevención del desarrollo de SHR tipo 1 o supervivencia. En base a los resultados de este estudio, el tratamiento de los pacientes con SHR tipo 2 con terlipresina y albúmina no parece justificado, excepto que se demuestre su utilidad en futuros estudios aleatorizados controlados con placebo.

P-36. LA REPRODUCIBILIDAD DE LA ELASTOGRAFÍA TRANSITORIA EN EL HÍGADO CIRRÓTICO PUEDE AFECTAR SU CAPACIDAD PRONÓSTICA PARA HIPERTENSIÓN PORTAL CLÍNICAMENTE SIGNIFICATIVA

I. Yepes Barreto, D. Rincón Rodríguez, C. Ripoll Noiseaux, A. Fernández Yunquera, A. Matilla Peña, M. Vega Catalina, M. Salcedo Plaza, J. Miranda, G. Clemente Ricote y R. Bañares Cañizares

CIBERehd. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Introducción: Aunque se ha sugerido que la elastografía transitoria (ET) es útil para el diagnóstico de hipertensión portal clínicamente significativa (HPCS), su reproducibilidad en el hígado cirrótico no ha sido evaluada aún.

Características de las medidas elastográficas			
	Dureza (Kp) *	IQR (%) *	Validez *
Medida 1	17 (4,6-75)	1,7 (0-16)	100 (67-100)
Medida 2	21 (5,9-75)	3,9 (0-16)	100 (71-100)
*Valores medianos (rango)			
Concordancia ET categórica (Ik: 0,59)			
	≤ 13,6 Kp	> 13,6 Kp y < 21 Kp	> 21 Kp
≤ 13,6 Kp (n 21)	16	5	0
> 13,6 Kp y < 21 Kp (n 14)	4	5	5
> 21 Kp (n 26)	0	2	24
Ik < 0,4: pobre; 0,4-0,75: moderado; > 0,75 excelente.			
Concordancia ET continua por estratos elastográficos			
	CCI	R2*	
Todos los pacientes (n 61)	0,95	0,52	
≤ 13,6 Kp (n 21)	0,6	0,29	
> 13,6 Kp y < 21 Kp (n 14)	0,3	0,10,	
> 21 Kp (n 26)	0,9	0,57	
*Relación entre la ET y el GPVH.			
Concordancia ET continua en función de la presencia de HPCS			
	CCI		
HPCS (n 46)	0,94		
No HPCS (n 15)	0,75		
CCI < 0,4: pobre; 0,4-0,7: moderado; > 0,7 excelente.			

Objetivos: Evaluar la reproducibilidad de la ET en la cirrosis y su influencia sobre la relación ET-gradiente de presión venosa hepática (GPVH).

Métodos: Se incluyeron 61 pacientes con diagnóstico confirmado de cirrosis [VHC, 83%], que recibieron estudio hemodinámico para valoración pronóstica de la cirrosis (n = 44) o terapia del hepatocarcinoma (n = 17). Después de una noche de ayuno, un operador único realizó dos medidas elastográficas consecutivas en puntos diferentes de la línea axilar media, antes del estudio hemodinámico. Se registraron variables analíticas, clínicas y hemodinámicas. Para evaluar la reproducibilidad de la ET como variable continua se utilizó el coeficiente de correlación intraclase (CCI) y como variable categórica (= 13,6 Kp, > 13,6 y < 21 Kp, = 21 Kp) el índice kappa (Ik). La regresión logística identificó los factores relacionados con la concordancia.

Resultados: Cuarenta y seis (75%) pacientes tenían HPCS. El GPVH fue la única variable asociada con la concordancia en el análisis multivariado (OR = 1,2, p = 0,005). Cuando se consideró la ET como variable numérica, la reproducibilidad en la cohorte global fue excelente, así como también al estratificarla en función de la existencia de HPCS. Sin embargo, se modificaba notablemente en los diferentes estratos elastográficos (< 13,6 Kp, 13,6-21Kp, = 21 Kp), disminuyendo en los estratos inferior e intermedio, así como la asociación entre el GPVH y la ET.

Conclusiones: La reproducibilidad de la ET en la cirrosis se incrementa con la gravedad de la enfermedad hepática, estimada mediante el GPVH. Sin embargo, no es uniforme a lo largo de todo su rango de valores. La disminución de la concordancia en algunos

intervalos podría afectar la magnitud de la asociación entre la ET y el GPVH.

P-37. CARACTERIZACIÓN DE LAS ALTERACIONES DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE EN UN MODELO DE CIRROSIS MURINA POR CCL4 ORAL

M. Úbeda^{a,b}, M. Lario^{a,b}, L. Muñoz^{a,b}, D. Díaz^{a,b}, M.J. Borrero^{a,b}, O. Pastor^c, L. García-Bermejo^d, M. Álvarez de Mon^{a,b,e} y A. Albillos^{a,b,f}

^aCIBERehd.

^bFacultad de Medicina. Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

^cDepartamento de Bioquímica; ^dDepartamento de Patología.

^eHospital Universitario Ramón y Cajal. Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid. España.

^fDepartamento de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Madrid. España.

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

Introducción: El modelo de cirrosis por administración oral de CCL4 en rata cursa con ascitis, traslocación bacteriana (TB) a ganglios linfáticos mesentéricos (GLM) y activación de las células del sistema inmune en hígado, GLM y circulación sistémica. Reproducir dichas alteraciones en ratones proporcionaría un modelo similar con más posibilidades de manipulación genética o inmunológica. Nues-

tro objetivo fue caracterizar las alteraciones del sistema inmune en diferentes territorios anatómicos en un modelo de cirrosis por CCl4 oral en ratones C57BL/6 que desarrolle ascitis y TB a GLM.

Métodos: Se emplearon 52 ratones, 40 para inducir cirrosis y 12 controles. Se administró una dosis fija de 60 µl de CCl4 dos veces por semana. El desarrollo de cirrosis se comprobó histológicamente. La TB se determinó por cultivo de GLM. La distribución, estado de activación y producción de citoquinas de las células mononucleares de hígado, sangre periférica y GLM se analizó por citometría de flujo.

Resultados: A las 16 semanas de CCl4 oral, 13 ratones habían muerto (33%) y otros 10 fueron sacrificados. Estos 10 ratones presentaban cirrosis, pero no ascitis ni TB. De los 17 animales que continuaron con CCl4, 9 alcanzaron las 32 semanas (53%) y se sacrificaron, ninguno presentaba ascitis ni TB. El hígado de los ratones cirróticos tratados 16 semanas presentaba expansión ($p < 0,01$) de monocitos y linfocitos T, B y NK. Esto se acompañó de una expansión significativa ($p < 0,05$) de células Tc efectoras y de monocitos inflamatorios y residentes en la sangre periférica. En ratones tratados 32 semanas, encontramos una marcada expansión ($p < 0,01$) de linfocitos T efectoras, Th y Tc, y de monocitos inflamatorios y residentes en hígado. Estas mismas subpoblaciones de células activadas se encontraban expandidas ($p < 0,01$) a nivel sistémico, destacando la de monocitos inflamatorios, 9 veces aumentados respecto a los controles. La producción de IFN γ por linfocitos T y NK y de TNF α por monocitos, tanto circulantes como intrahepáticos, estaba también aumentada ($p < 0,05$) en los ratones tratados 32 semanas. En estos ratones también observamos una correlación directa entre el número de monocitos inflamatorios ($r = 0,91$, $p < 0,05$) y los productores de TNF α ($r = 0,86$, $p < 0,05$) presentes en sangre periférica e hígado. En consonancia con la ausencia de TB, las células inmunitarias del GLM no mostraban signos de activación.

Conclusiones: El modelo de cirrosis por CCl4 oral en ratones C57BL/6, a diferencia del de rata, no se asocia a formación de ascitis ni TB a GLM, pero puede ser útil para el estudio de las alteraciones del sistema inmune en la cirrosis independientes de la TB.

P-38. CONTRIBUCIÓN DE HIPERAMONEMIA Y FACTORES INFLAMATORIOS AL DETERIORO COGNITIVO EN ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA

A. Urios^a, E. Montesinos^b, M.L. García-Torres^c, I. Molina^b, M. Civera^d, J.A. del Olmo^c, J. Ortega^e, J. Martínez-Valls^d, M.A. Serra^c, N. Cassinello^e, A. Wassel^c, E. Jordá^b, V. Felipo^f y C. Montoliu^a

^aFundación Investigación Hospital Clínico Universitario de Valencia. INCLIVA. Valencia. España.

^bServicio de Dermatología; ^cGrupo de Hepatología. Servicio Aparato Digestivo; ^dServicio de Endocrinología; ^eServicio de Cirugía. Hospital Clínico Universitario. Valencia. España.

^fLaboratorio de Neurobiología. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. España.

Introducción: Los pacientes con insuficiencia hepática aguda o crónica pueden desarrollar encefalopatía hepática (EH). El término EH se utiliza para una amplia gama de situaciones en las que la función cerebral se deteriora debido a un fallo en la función hepática. Se cubre una amplia gama de trastornos neuropsiquiátricos de cambios mínimos en la personalidad o alteración del ciclo sueño-vigilia de alteraciones en la coordinación de la función cognitiva, la personalidad, la conciencia o el motor. Entre el 30 y el 50% de los pacientes con cirrosis hepática, sin síntomas clínicos de la EH, muestran encefalopatía hepática mínima (EHM) con deterioro cognitivo leve que puede ser detectado por medio de pruebas psicométricas o de evaluación neurofisiológica. EH es una consecuencia de la insuficiencia hepática. Es importante identificar los factores

asociados con insuficiencia hepática están involucrados en la inducción de la EH y de aclarar los mecanismos por los que funcionan estos factores de efecto cerebral.

Objetivos: Evaluar la contribución de la hiperamonemia y la inflamación en la inducción de deterioro cognitivo leve (o EHM).

Métodos: Se analizó la presencia de deterioro cognitivo leve mediante la batería de tests psicométricos PHES, y se midieron los niveles de amonio y de las citocinas pro-inflamatorias IL-6 e IL-18 en sangre de pacientes con diferentes tipos de enfermedades de tipo dermatológico (psoriasis y queloides) o hepáticas (esteatosis, esteatohepatitis y cirrosis), que presentaban diferentes grados de hiperamonemia y/o de inflamación. El estudio incluyó pacientes con 1) cirrosis hepática, que presentaban tanto hiperamonemia como inflamación; 2) enfermedad no alcohólica del hígado graso (NAFLD), con inflamación pero sin hiperamonemia; 3) esteatohepatitis no alcohólica (NASH), con inflamación e hiperamonemia muy leve; 4) psoriasis, con inflamación pero no hiperamonemia; 5) queloides, con inflamación e hiperamonemia y 6) sujetos control, sin inflamación ni hiperamonemia.

Resultados: Los resultados muestran que en pacientes con enfermedades hepáticas el deterioro cognitivo puede aparecer antes de la progresión a cirrosis si los niveles de hiperamonemia e inflamación son lo suficientemente elevados. Cinco de 11 pacientes con NASH, sin cirrosis hepática, mostraron deterioro cognitivo asociado a hiperamonemia e inflamación. Los pacientes con queloides presentaban también alteraciones cognitivas asociadas a hiperamonemia e inflamación, en ausencia de enfermedad hepática.

Conclusiones: La hiperamonemia o la inflamación solas no inducía deterioro cognitivo, pero la combinación de ciertos niveles de hiperamonemia e inflamación es suficiente para inducir deterioro cognitivo, incluso en ausencia de enfermedad hepática.

P-39. ANÁLISIS DEL ESTADO NUTRICIONAL EN PACIENTES CIRRÓTICOS

M.C. Rodríguez Grau^a, R. Moreno Otero^a, M.L. García Buey^a, G. Martín Peña^b y M. Trapero Marugán^a

^aServicio de Gastroenterología y Hepatología. ^bServicio de Nutrición y Dietética. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

Introducción: La malnutrición es una de las complicaciones más frecuentes de la cirrosis y se comporta como factor pronóstico independiente. Esta desnutrición proteico-calórica tiene origen multifactorial: ingesta reducida por dietas restrictivas, náuseas y saciedad precoz, anorexia asociada al alcoholismo y a citocinas como TNF α , malabsorción relacionada con enteropatía por hipertensión portal y colestasis. El déficit de glucógeno secundario a insuficiencia hepática conduce a una gluconeogénesis aumentada por el estado hipercatabólico que sufren a menudo estos enfermos.

Objetivos: Analizar la prevalencia de malnutrición y comparar métodos diagnósticos de malnutrición en esta cohorte de pacientes: valoración global (RFH-SGA), valores analíticos y antropométricos, índice creatinina-altura, índice de Maastricht e impedancia bioeléctrica. Analizar sus hábitos nutricionales.

Métodos: Estudio prospectivo descriptivo en pacientes hospitalizados en el Servicio de Aparato Digestivo en el periodo de enero a septiembre de 2011.

Resultados: Se incluyeron 50 pacientes (edad media 65 ± 13 años, 78% varones). La etiología más frecuente de la cirrosis fue la infección por VHC (44%), seguida por el alcoholismo (40%). La clasificación de MELD media fue $12,5 \pm 5,2$. En el análisis segmentado por grupos de Child-Pugh se demostró empeoramiento progresivo de proteínas séricas, linfocitos totales en sangre periférica, circunferencia muscular braquial (CMB), índice de Maastricht y valoración global modificada por el grupo del Royal Free Hospital (RFH-GA).

Igualmente el porcentaje de pacientes que no realizaba una alimentación adecuada aumentaba a medida que lo hacía el estadio de la enfermedad. También hubo empeoramiento de la capacidad funcional, según la Palliative Performance Status (PPS). El 46% de los pacientes presentaba carcinoma hepatocelular. Las complicaciones más frecuentes fueron descompensación hidrópica y hemorragia digestiva alta varicosa. Durante el periodo de estudio el 16% reingresó y otro 16% falleció por complicaciones de su patología. La RFH-GA muestra desnutrición leve/moderada 59,2% y grave 10,2% ajustada a peso en pacientes con ascitis tiene relación estadísticamente significativa con la RFH-GA con p de Fisher de 0,00 y Kappa de 0,82 significativamente estadístico. La CMB tiene relación estadísticamente significativa con la RFH-GA con un coeficiente kappa de 0,25 estadísticamente significativo. Con una S del 41, 2% y E del 100%.

Conclusiones: Se ha hallado desnutrición, según la técnica empleada: BIA 17,4%, medidas antropométricas 28%, RFH-GA 69,4%, ICA 90% y proteínas séricas 98%. Se ha demostrado relación estadísticamente significativa entre la RFH-GA y las medidas antropométricas. La RFH-GA, el índice de Maastricht, la CMB y las medidas de laboratorio mostraron relación directa con la evolución de la enfermedad según Child-Pugh. Ésta también se relaciona con la clasificación funcional PPS. Más del 50% de los pacientes con cirrosis no realiza una alimentación adecuada.

Enfermedad hepática por depósito de grasa

P-40. LA ELIMINACIÓN SELECTIVA DE PPARGAMMA EN DISTINTOS TIPOS DE CÉLULAS HEPÁTICAS ESTABLECE PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS Y ANTIFIBROGÉNICAS PARA ESTE RECEPTOR NUCLEAR EN LAS CÉLULAS DE KUPFFER

E. Morán-Salvador^a, E. Titos^a, A. González-Pérez^a, B. Rius^a, V. García-Alonso^a, C. López-Vicario^a, R. Miquel^b, Y. Barak^c, V. Arroyo^d y J. Clària^a

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

^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic de Barcelona. España.

^cUniversity of Pittsburgh. Pittsburgh. Pennsylvania. EE.UU.

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

Introducción: El receptor nuclear PPARGamma ejerce un papel central no sólo en la regulación del metabolismo lipídico y de carbohidratos sino también en la modulación de la respuesta inflamatoria. Recientemente hemos demostrado que la expresión de PPARGamma en los hepatocitos actúa como factor pro-esteatótico en un modelo experimental de enfermedad del hígado graso de origen no-alcohólico inducida por la administración de una dieta enriquecida en grasa (Morán-Salvador et al. FASEB J. 2011). Sin embargo, en el momento actual, el papel fisiopatológico de PPARGamma en la respuesta inflamatoria y fibrogénica del hígado aún está por definir.

Objetivos y métodos: El objetivo del presente estudio fue investigar la respuesta al modelo experimental de inflamación y fibrosis inducida por la administración de tetracloruro de carbono (CCl4) de ratones knockout condicionales en los que se ha eliminado el gen de PPARGamma mediante la tecnología Cre-Lox P de forma específica en hepatocitos o en células de Kupffer. Para ello, 8 ratones heterocigotos knockout condicionales específicos para hepatocito (PPARGamma^{fl/fl}- Alb-Cre) (grupo Hep), 9 ratones heterocigotos knockout condicionales específicos para macrófagos (PPARGam-

ma^{fl/fl}- LysM-Cre) (grupo Mac), y 8 ratones heterocigotos del gen PPARGamma "floxeado" (Control^{fl/fl}-) (grupo control) recibieron CCl4 (1 ml/kg peso corporal, dos veces por semana, vía intraperitoneal) durante 8 semanas. También se analizó la respuesta inflamatoria inducida por el LPS (1 mg/ml, 18 horas) en cortes de alta precisión (cultivos organotípicos o "tissue slices") de tejido hepático procedente de los tres grupos del estudio.

Resultados: La eliminación selectiva de PPARGamma en las células de Kupffer (grupo Mac) se asoció a un mayor grado de necroinflamación (hematoxilina/eosina), muerte celular por apoptosis (actividad caspasa 3/7), infiltrado inflamatorio (inmunohistoquímica F4/80), y expresión de genes proinflamatorios (TNF-alpha y COX-2) en respuesta al CCl4 respecto a la observada en los ratones control. La respuesta inflamatoria al CCl4 fue similar en los ratones knockout específicos de hepatocito (grupo Hep) que en los ratones control. El papel anti-inflamatorio compensatorio de PPARGamma en las células de Kupffer se confirmó en cultivos organotípicos procedentes de ratones del grupo Mac en los cuales se apreció una expresión exacerbada de COX-2 y IL-6 en respuesta al LPS. Además, al contrario de lo observado en los ratones knockout específicos para hepatocito (grupo Hep), los ratones knockout específicos para macrófago (grupo Mac) presentaron una mayor susceptibilidad a los efectos fibrogénicos (evaluados mediante tinción con Sirius Red) del tratamiento con CCl4.

Conclusiones: Estos resultados indican, que al contrario de lo que ocurre en el hepatocito, en la célula de Kupffer el receptor nuclear PPARGamma juega un papel compensatorio de la respuesta inflamatoria y fibrogénica.

P-41. EL BLOQUEO DE LA VÍA DEPENDIENTE DE LA CICLOOXIGENASA (COX) Y DE RADICALES LIBRES CORRIGEN LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL INTRAHEPÁTICA DE RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO (SM) Y ENFERMEDAD HEPÁTICA POR DEPÓSITO DE GRASA (EHDG)

M. Hernández-Guerra^{a,b}, M. Moreno^a, Z. Adrián^a, Y. González^a, E. Salido^b, V. Felipe^a, J.A. Díaz^a, B. Abrante^b y E. Quintero^{a,b}

^aServicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Canarias. Tenerife. España.

^bUnidad de Investigación. Universidad de La Laguna. Tenerife. España.

Introducción: El SM se asocia a la presencia precoz de disfunción endotelial a nivel sistémico, que se atribuye a una menor biodisponibilidad de óxido nítrico (ON), pero también a factores inflamatorios y estrés oxidativo. Esta anomalía se traduce en atenuación en la respuesta vasodilatadora, aumento del tono y fenómenos de agregación/trombosis, que en definitiva contribuyen a agravar la hipertensión arterial. El SM provoca en el hígado EHDG que puede complicarse con cirrosis e hipertensión portal. La presencia de disfunción endotelial a nivel intrahepático asociado al SM, puede contribuir a empeorar la EHDG y los mecanismos implicados de conocerse permitirían corregir esta situación de forma precoz. El objetivo fue investigar qué mecanismos están involucrados en un modelo experimental de SM y EHDG.

Métodos: Ratones Sprague-Dawley fueron alimentadas 6 semanas con un pienso estándar (CD) o rico en grasas (HFD). La presencia de SM fue evaluado mediante el peso, presión arterial sistémica, glucosa basal y test de tolerancia. Se investigó el grado de EHDG mediante técnicas histológicas convencionales. La disfunción endotelial fue evaluada en el modelo de perfusión hepática a través de la pérdida de capacidad vasodilatadora mediante curvas dosis-respuesta a ACh (10-8, 10-7, 10-6M) tras precontraer con metoxamina (10-4M) en ratas CD y HFD. A su vez grupos de ratas fueron previamente incubadas con vehículo, indometacina (INDO, inhibidor de COX), Tempol (antioxidante) o L-NAME (inhibidor de la óxido nítrico

sintasa). Se efectuaron estudios mediante Western blot para medir actividad de la eNOS, nivel de inflamación (TNF- α) y estrés oxidativo (3-NT).

Resultados: Las ratas expuestas a HFD padecieron SM (obesidad, hiperglucemia/intolerancia a la glucosa e hipertensión arterial) e histológicamente esteatohepatitis (esteatosis e inflamación) comparado con el grupo CD. Los estudios funcionales mostraron como las ratas HFD comparadas con CD, presentaron una marcada menor respuesta vasodilatadora a ACh ($p < 0,01$). En ratas CD la preincubación con INDO o Tempol no modificó la respuesta. Sin embargo, en las ratas HFD ambos bloqueos corrigieron la respuesta vasodilatadora. La preincubación con L-NNA únicamente modificó la respuesta en ratas sanas. El hígado de las ratas HFD mostró un mayor grado de expresión de TNF- α , 3-NT y una menor actividad de la eNOS.

Conclusiones: En un modelo experimental de SM y EHDG, existe atenuación en la respuesta vasodilatadora en estadios iniciales. Esta menor respuesta a estímulos vasodilatadores mejora al disminuir la actividad de la COX y el estrés oxidativo. La falta de respuesta tras inhibir eNOS en la EHDG refleja la menor biodisponibilidad de ON, atribuible a un fenómeno de scavenging, uncoupling o ambos. Todos estos resultados sugieren que la disfunción endotelial en la EHDG es un fenómeno precoz, susceptible de ser modificado y representa una opción para evitar la progresión de la enfermedad hacia estadios más avanzados.

P-42. PROCESAMIENTO DE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA MEDIANTE EL USO DE REDES NEURONALES PARA LA DETERMINACIÓN DEL ESTADO Y DISTRIBUCIÓN DE LA FIBROSIS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD HEPÁTICA POR DEPÓSITO DE GRASA NO ALCOHÓLICA (NAFLD)

R. Aparcero^{a,b}, E. Aranda-Guerrero^{a,b,c}, E. Gómez-González^c, L. Rojas^{a,b}, I. Moreno^d, D. Ramírez-Martínez^c, A. Fernández-Argüelles^e, R. Gallego-Durán^{a,b}, M.J. Pareja^{a,b}, R.J. Andrade^d y M. Romero-Gómez^{a,b}

^aUnidad de Gestión Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas; ^bCIBERehd; ^cUGC Diagnóstico por la imagen. Hospital de Valme. Sevilla. España.

^dGrupo de Física Interdisciplinar. ETSI. Universidad de Sevilla. España.

^eUGC Unidad Clínica de Aparato Digestivo y CIBEREHD. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. España.

Objetivos: Estudiar el potencial del procesamiento de imágenes de resonancia magnética (RM) del hígado mediante análisis óptico y el uso de las redes neuronales como un método no invasivo para determinar la existencia de fibrosis hepática en pacientes con NAFLD.

Métodos: Incluimos 38 pacientes con diagnóstico histológico de NAFLD. Cohorte de estimación ($n = 24$) y cohorte de validación ($n = 36$). Las biopsias se valoraron de forma centralizada (MJP) para valorar la fibrosis según Kleiner: fibrosis leve frente a fibrosis significativa [F0-F1 ($n = 25$) vs F2-F4 ($n = 13$)]. Se han utilizado 6 protocolos RM distintos: COR-SSFSE-T2, AX-SSFSE-T2, AX-FAST-STIR, AX-Fase/Fase, Dinámico, y Difusión. Se han procesado 6 cortes de cada protocolo. Se dibujó un mallado (cuadrícula) de muestras sobre cada corte de RM en la zona de la imagen correspondiente al parénquima hepático, y a cada muestra válida se le aplicaron 84 estimadores que cuantifican propiedades físicas de la imagen. Se empleó un entrenamiento de una red neuronal que definió como entrada los resultados de 3 estimadores del protocolo AX-FAST-STIR: E13 (estimador 13: desviación típica), E28 (estimador 28: mediana) y E48 (estimador 48: producto de las componentes de la energía de convolución) y una estructura formada

por dos capas internas con 6 neuronas cada una de ellas. La salida fue la estimación de fibrosis (FibroRM) calculada como la media tras la exclusión de los extremos por debajo del p5 y por encima del p95. La homogeneidad se calculó como la distancia entre el p5 y el p95 de todas las muestras.

Resultados: El protocolo AX-FAST-STIR no fue valorable en 2 pacientes. En la cohorte de estimación el FibroMR correlacionó con la fibrosis ($n = 24$, $r = 0,52$; $p < 0,001$) y mostró un área bajo la curva de 0,87 (IC95%: 0,86-0,88). En la cohorte de validación ($n = 36$) la seguridad diagnóstica fue de AUROC: 0,92 (IC95%: 0,81-1,0). Los valores de FibroRM se encontraron entre -1 y 1. Un punto de corte de 0,34 mostró una seguridad diagnóstica del 86,1% (IC95%: 73,4%-98,8%) en el diagnóstico de fibrosis significativa. Presentaban fibrosis leve 22/25 pacientes con FibroRM $< 0,34$ y fibrosis significativa 9/11 con FibroRM $> 0,34$; $p < 0,0001$. La distribución de la fibrosis no es homogénea y en cada paciente se pueden encontrar diferentes estadios de fibrosis. La homogeneidad medida por recorrido (p95-p5) = 0,68 clasificó como homogéneo a 29/36 (81%) y detectó marcada heterogeneidad en 7/36 (19%).

Conclusiones: La fibrosis valorada por FibroMR calculada mediante la combinación de estimadores E13, E28 y E48 mediante arquitectura de redes neuronales permite la correcta clasificación de la fibrosis, demuestra la heterogeneidad de la distribución de la fibrosis y puede ser útil en el manejo de pacientes con NAFLD.

Agradecimientos: La investigación llevada a cabo para obtener estos resultados ha recibido financiación del Séptimo Programa Marco de la Comunidad Europea (FP7/2007-2013) bajo el acuerdo de subvención nº HEALTH-F2-2009-241762 para el proyecto FLIP.

P-43. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS EN EL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES DE RESONANCIAS MAGNÉTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE FIBROSIS EN NAFLD

E. Aranda-Guerrero^{a,b,c}, D. Ramírez-Martínez^a, E. Gómez-González^a, R. Aparcero^{b,c}, L. Rojas^{b,c}, I. Moreno^d, A. Fernández-Argüelles^e, R. Gallego-Durán^{b,c}, M.J. Pareja^{b,c}, R. Andrade^d y M. Romero-Gómez^{b,c}

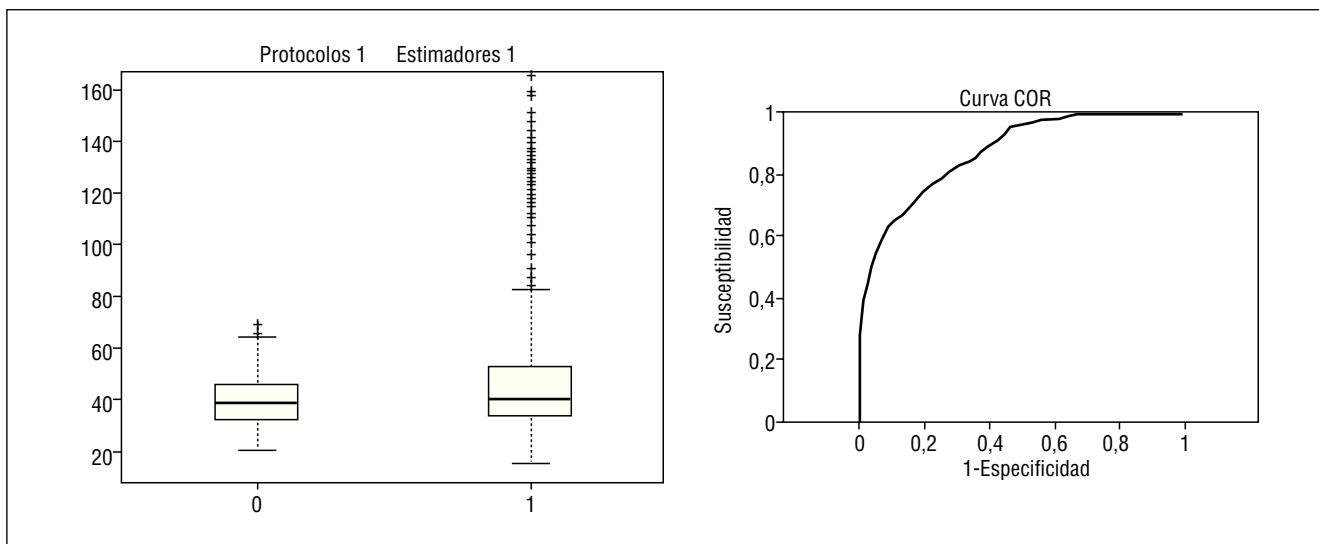
^aGrupo de Física Interdisciplinar. ETSI. Universidad de Sevilla. España.

^bUnidad de Gestión Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas; ^cCIBERehd; ^dUCM Radiología. Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

^eUGC Unidad Clínica de Aparato Digestivo y CIBEREHD. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. España.

Objetivos: Estudiar diversas aproximaciones estadísticas (regresión logística frente a redes neuronales) para analizar el procesamiento de imágenes de resonancia magnética (RM) del hígado como un método no invasivo para evaluar el estado y distribución de la fibrosis en NAFLD.

Métodos: Se definió como objetivo la correcta clasificación de los pacientes según padeciesen o no fibrosis significativa (F0-F1 vs F2-F4). Las imágenes de hígado obtenidas por resonancia magnética se procesaron mediante el software registrado de análisis óptico de imágenes. Se aplicó el análisis de 84 estimadores de imagen a cada muestra procedente de los estudios RM de los distintos pacientes incluidos en el estudio y se realizó la clasificación de los resultados de los estimadores mediante: 1) Análisis estadísticos convencionales (ANOVA, Kruskal-Wallis y regresión logística) y 2) Aproximación mediante redes neuronales: la estructura y la entrada de la red neuronal más adecuada se eligió tras la inclusión de los estimadores informativos. Del total ($n = 84$ estimadores) se seleccionaron 10 estimadores. A continuación se procedió a seleccionar el número de entradas (única, doble o triple). Utilizando 3 estima-



dores, lo que equivale a tres entradas y dos capas, se procesó una extensa batería de pruebas para probar todas las redes neuronales que se pudieran obtener para cada una de las posibles entradas de 3 estimadores distintos junto a las distintas estructuras de cada una de las capas internas, poniendo un máximo de 10 neuronas en cada una de ellas.

Resultados: La aplicación de métodos estadísticos estándar aportó resultados iniciales prometedores que desaparecieron con el incremento del tamaño muestral (fig.), mostrando solapamiento de los estimadores en la predicción de fibrosis. El análisis estadístico basado en arquitectura de redes neuronales alcanzó un coeficiente de correlación de 0,6 con la fibrosis histológica, con un área bajo la curva de 0,87 (IC95%: 0,86-0,88).

Conclusiones: Nos encontramos ante un grupo de redes neuronales que para el caso de una entrada de 3 valores y dos capas, nos permiten identificar la presencia de fibrosis significativa en pacientes con NAFLD.

Agradecimientos: La investigación llevada a cabo para obtener estos resultados ha recibido financiación del Séptimo Programa Marco de la Comunidad Europea (FP7/2007-2013) bajo el acuerdo de subvención n° HEALTH-F2-2009-241762 para el proyecto FLIP.

P-44. LA ELIMINACIÓN QUÍMICA O GENÉTICA DEL ANIÓN SUPERÓXIDO MITOCONDRIAL PROMUEVE ESTEATOHEPATITIS DEBIDO A LA DISMINUCIÓN DEL GSH

N. Matías^a, C. Von Montfort^a, A. Fernández^a, R. Fucho^a, M.L. Martínez-Chantar^b, J.M. Mato^b, C. García-Ruiz^a y J.C. Fernández-Checa^a

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

^bCIC-BioGune. Vizcaya. España.

Introducción: La esteatohepatitis (EH) está asociada con la disfunción mitocondrial y la consecuente generación de anión superóxido (AS). El AS mitocondrial puede interaccionar con el óxido nítrico (NO) para formar peroxinitrito o, bien dismutarse a peróxido de hidrógeno mediante la SOD2. El peroxinitrito puede modificar la función de proteínas al nitrosar residuos de tirosina, por lo cual su eliminación puede ser de importancia terapéutica. El glutatión mitocondrial (GSHm) metaboliza el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) reduciéndolo a H₂O y su limitación puede dar lugar a un in-

cremento de los niveles de H₂O₂ y el subsiguiente daño oxidativo. Dado que el GSHm está disminuido en modelos y pacientes con EH, el objetivo de nuestro estudio fue determinar la relación entre el AS y el GSHm, y estudiar el papel del GSHm en la eliminación de AS en modelos nutricionales y genéticos de EH.

Métodos: El anión superóxido se generó por xantina/xantina oxidasa o antimicina A (AA) seguido de la incubación con MnTBAP con o sin disminución de GSHm, determinando su nivel por MitoSOX. El peróxido de hidrógeno y los peroxinitritos fueron determinados por Amplex Red y HPF respectivamente mientras que las proteínas modificadas en 3-nitrotirosina fueron analizadas por inmuno histoquímica. Los ratones alimentados con dieta deficiente en metionina y colina (MCD) o ratones deficientes en MAT1A fueron tratados con MnTBAP (i.p) con o sin administración de éster de GSH (GSHee). Se analizaron parámetros de estrés oxidativo/nitrosativo, daño hepático, inflamación y fibrosis.

Resultados: En mitocondrias aisladas, la generación de AS disminuye tras tratamiento con miméticos de la SOD pero los niveles de peróxido de hidrógeno aumentan si el GSHm está disminuido. La formación de peroxinitrito en mitocondria aislada requiere la adición exógena de NO. En hepatocitos primarios, los miméticos de la SOD potencian la generación de peróxido de hidrógeno inducida por AA y la peroxidación lipídica especialmente tras la disminución selectiva del GSHm, dando lugar a la muerte celular por necrosis. El restablecimiento de los niveles de GSHm tras incubación con GSHee, revirtió estos efectos. Ratones alimentados con dieta MCD durante 1-2 semanas o deficientes en MAT1A muestran disminución del GSHm (50-70%). Cuando estos animales fueron sometidos a terapia con MnTBAP, durante 7 días (i.p.) los signos de inflamación, fibrosis y daño hepático empeoraron, a pesar de los bajos niveles de proteínas modificadas en 3-nitrotirosina. Por otra parte, ratones transgénicos para la SOD2 cuyo nivel de expresión de la SOD2 es 2-3 mayor que en ratones wt, mostraron una mayor susceptibilidad a la EH inducida por MCD. El nivel de RNAm de SIRT3 que controla la expresión de SOD2 (Cell Metab. 2010) están disminuidos (3-4 veces) en sujetos con EH comparado con sujetos controles.

Conclusiones: Estos resultados muestran el papel fundamental del GSHm en el control de la toxicidad o valor terapéutico de la eliminación del AS mitocondrial. Estos resultados sugieren que la combinación del incremento del GSHm con miméticos de SOD podría ser de relevancia terapéutica en la EH.

P-45. LA ADMINISTRACIÓN DE S-ADENOSILMETIONINA AL RATÓN DEFICIENTE EN MAT1A RESTAURA EL ENSAMBLAJE Y SECRECIÓN DE VLDL

M. Martínez-Uña^a, X. Buqué^a, I. Aurrekoetxea^a, A. Cano^a, L. Fernández-Ares^a, M.L. Martínez-Chantar^b, J.M. Mato^b, B. Ochoa^a y P. Aspichueta^a

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

^bCICbioGUNE. CIBERhd. Derio. Vizcaya. España.

Introducción: La metionina adenosiltransferasa (MAT) es la responsable de la síntesis de S-adenosilmetionina (SAME) y MAT1 y MAT1A son los productos del gen MAT1A. La ausencia de este gen en ratones provoca una deficiencia hepática crónica en SAME, principal donador biológico de metilos. Los ratones deficientes en MAT1A (MAT1A-KO) de 8 meses desarrollan esteatohepatitis no alcohólica de forma espontánea, a los 3 meses, sin signos visibles de daño hepático, el ensamblaje y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) se encuentran alterados. En concreto, se produce un descenso en la movilización de los almacenes de triglicéridos (TG) y en su secreción, así como en la síntesis de fosfatidilcolina (PC) por la actividad fosfatidiletanolamina N-metiltransferasa (PEMT). Además, la secreción de VLDL-apoB aumenta dando como resultado partículas de VLDL pequeñas y pobres en TG.

Objetivos: Averiguar si la recuperación de los niveles hepáticos de SAME en ratones deficientes en MAT1A es capaz de restaurar el ensamblaje y secreción de VLDL.

Métodos: Se utilizaron ratones MAT1A-KO de 3 meses de edad y sus controles (WT) y se les administró por vía oral SAME (100 mg/kg) durante 7 días o solo vehículo. Las VLDL recién secretadas se aislaron del suero por ultracentrifugación tras inhibición de su metabolismo con el detergente Poloxamer 407. Se analizó el tamaño y el contenido lipídico y apoproteico de las mismas. Las actividades de las principales enzimas implicadas en el ensamblaje de VLDL se midieron mediante ensayos radiométricos en microsomas aislados de hígado.

Resultados: La administración de SAME al ratón deficiente en MAT1A revirtió el descenso del 20% en la secreción de TG en VLDL, llegando a alcanzar el valor del ratón WT. Además, se observó un descenso en la secreción de VLDL-apoB que se tradujo en la recuperación de las características fenotípicas de las partículas de VLDL que resultaron ser similares a las del ratón WT. En lo referente a las enzimas implicadas en el ensamblaje de VLDL, cabe destacar que la administración de SAME al ratón MAT1A-KO provocó un aumento de las actividades diglicérido aciltransferasa y triglicérido lipasa, necesarias para la movilización del TG almacenado en gotas lipídicas. La administración de SAME a los animales deficientes en MAT1A provocó un aumento en la actividad PEMT, responsable de la síntesis de la PC hepática por metilación de la fosfatidiletanolamina, superando incluso el valor de la actividad en el ratón control.

Conclusiones: El restablecimiento de los niveles hepáticos de SAME en ratones MAT1A-KO restaura el ensamblaje y secreción de VLDL, lo que sugiere que los cambios observados están principalmente mediados por los bajos niveles hepáticos de SAME.

P-46. DISMINUCIÓN DE LA EXPRESIÓN EN TEJIDO ADIPOSO DE LA PROTEÍNA DESACOPLANTE MITOCONDRIAL UCP-1 DURANTE LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICA (EHGNA) EN LA OBESIDAD MÓRBIDA

Á. Carazo^a, L. Sanjuán^b, A. Gila^{a,c}, J.A. Muñoz-Gómez^a, L.M. Alcázar^a, A. Martín^a, P. León^{a,c}, J.A. Jiménez Ríos^d, J. García Rubio^d, C. Fernández España^b, F. Aguilar^b, T. Caballero^e y J. Salmerón^{a,b,c}

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

^bDepartamento de Medicina; ^eDepartamento de Anatomía

Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España.

^cCIBERhd.

Introducción: UCP-1 (también llamada termogenina) es una proteína desacoplante mitocondrial, cuya función es participar en la generación del calor corporal (termogénesis). UCP-1 tiene por tanto un papel relevante en el nivel del metabolismo basal. En este contexto, polimorfismos en el gen ucp-1 han sido asociados con la predisposición a desarrollar obesidad. El objetivo de nuestro trabajo es relacionar la progresión de la EHGNA, durante la obesidad mórbida, con los niveles de expresión de los 5 miembros de la familia de proteínas desacoplantes mitocondriales, en hígado y tejidos adiposo visceral y subcutáneo.

Métodos: Estudio prospectivo de 50 pacientes obesos mórbidos. A cada paciente se le extrajeron biopsias de hígado, tejido adiposo visceral y tejido adiposo subcutáneo durante el transcurso de la cirugía bariátrica. Las biopsias hepáticas se analizaron por el mismo anatomopatólogo según el score de Kleiner. De una fracción de las biopsias de tejidos adiposo y hepático se extrajo RNA total y se cuantificó, mediante RT-PCR en tiempo real, la concentración de los ARN mensajeros para las 5 proteínas desacoplantes y 3 genes housekeeping (PPIA, RPS13 y UBC). Los pacientes se clasificaron en: Grupo 1, 8 pacientes sin EHGNA; Grupo 2, 16 pacientes con esteatosis pero sin esteatohepatitis (índice Kleiner < 3); Grupo 3, 26 pacientes con probable esteatohepatitis o esteatohepatitis (índice Kleiner ≥ 3).

Resultados: En tejido adiposo visceral y subcutáneo, pero no en tejido hepático, la expresión de UCP-1 se redujo significativamente en pacientes del Grupo 2 ($p = 0,039$ en grasa visceral y $p = 0,005$ en grasa subcutánea) y Grupo 3 ($p = 0,004$ en grasa visceral y $p < 0,000$ en grasa subcutánea), respecto a los pacientes del Grupo 1. Sin embargo, en ninguno de los tejidos analizados, la expresión del resto de los miembros de las proteínas desacoplantes presentaba variaciones significativas respecto a la progresión de la EHGNA. Comparando la expresión de las proteínas estudiadas entre los dos tipos de tejido graso, se observó un mayor nivel de expresión en tejido adiposo visceral para las proteínas desacoplantes UCP-1 y UCP-2, tanto en el conjunto de los pacientes ($p < 0,000$) como en cada uno de los grupos según la clasificación de Kleiner ($p < 0,01$).

Conclusiones: En obesos mórbidos, la expresión de la proteína desacoplante UCP-1 en los tejidos adiposos visceral y subcutáneo, disminuye en asociación con la progresión de la EHGNA. Debido a la relación de esta proteína con la función mitocondrial, la termogénesis y el nivel del metabolismo basal, estos datos ofrecen nuevas perspectivas sobre la influencia del tejido adiposo en el origen y progresión de la EHGNA.

P-47. LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LA ÁCIDO GRASO TRANSLOCASA CD36 SOLUBLE (CD36S) SE ASOCIAN CON EL GRADO DE ESTEATOSIS Y DE RESISTENCIA A LA INSULINA EN PACIENTES CON HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO PERO NO EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

M.E. Miquilena Colina^a, J. Crespo^b, O. Lo Iacono^c, M. Romero Gómez^d, J. García-Samaniego^e, M. Fernández Bermejo^f, J. Rodríguez de Cía^a, A. Sáez^a, J.L. Porrero^a, C. Lozano^a, J. Vargas^a, M.T. García Unzueta^a, A. Díaz^a, S. Soto Fernández^c, L. Rojas^d, A. Madejón^e y C. García Monzón^a

^aUnidad de Investigación-Hepatología. CIBERehd. Hospital Universitario Santa Cristina. Madrid. España.

^bHospital Marqués de Valdecilla. Santander. España.

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

^dUnidad de Gestión Clínica Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas. CIBERehd. Hospital Universitario Valme. Sevilla. España.

^eUnidad de Hepatología. CIBERehd. Hospital Carlos III. Madrid. España.

^fServicio de Aparato Digestivo. Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. España.

^gServicio de Gastroenterología y Hepatología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

Introducción: La ácido graso translocasa CD36 (CD36) está anormalmente sobreexpresada en los hepatocitos de pacientes con esteatosis hepática (Gut, 2011). Se ha demostrado en estudios poblacionales que las concentraciones séricas de la fracción soluble de CD36 (CD36s) se correlacionan positivamente con la presencia de resistencia a la insulina y síndrome metabólico, factores implicados en la patogenia de la esteatosis hepática, pero se desconoce su potencial asociación con esta prevalente hepatopatía.

Objetivos: Evaluar la relación entre las concentraciones séricas de CD36s y el grado de esteatosis en pacientes con hígado graso no alcohólico (HGNA) y en pacientes con hepatitis crónica C (HCC).

Métodos: Se determinaron las concentraciones de CD36s, mediante ELISA cuantitativo, en muestras de suero en ayunas de 399 pacientes, 227 con HGNA (55 con esteatohepatitis), 87 con HCC (49 con esteatosis) y 85 con hígado histológicamente normal (HN). Todos los pacientes se caracterizaron desde un punto de vista antropométrico, metabólico, virológico e histológico. El análisis comparativo de las concentraciones de CD36s en los diferentes grupos de pacientes se realizó por la t de Student y las potenciales correlaciones entre CD36s y las variables antropométricas, metabólicas e histológicas de las cohortes en estudio se analizaron mediante el test r de Spearman utilizando el programa estadístico SPSS 15.0.

Resultados: En los pacientes con HGNA, las concentraciones séricas de CD36s fueron significativamente más elevadas en los pacientes con esteatosis simple ($361,3 \pm 286,3$ pg/ml) que en aquellos con esteatohepatitis ($229,5 \pm 202,5$ pg/ml) y que en los pacientes con HN ($173,9 \pm 137,3$ pg/ml; $p < 0,001$ en ambos casos). Las concentraciones de CD36s fueron más altas en los pacientes con esteatohepatitis que en los pacientes con HN, pero sin alcanzar significación estadística. En los pacientes con HCC, no hubo diferencias significativas entre los niveles circulantes de CD36s de los pacientes con esteatosis asociada ($428,7 \pm 260,3$ pg/ml) de aquellos sin esteatosis ($387,2 \pm 283,5$ pg/ml, $p = 0,485$), pero sí con respecto al grupo HN ($p < 0,001$ en ambos casos). Por otro lado, en los pacientes con HGNA, se observó una correlación positiva entre las concentraciones séricas de CD36s y el índice de masa corporal ($r = 0,385$; $p < 0,001$), la insulinemia ($r = 0,155$; $p = 0,02$), el índice HOMA ($r = 0,168$; $p = 0,012$) y el grado histológico de esteatosis ($r = 0,178$; $p = 0,007$) mientras que, en los pacientes con HCC, los nive-

les circulantes de CD36s no se correlacionaban con las variables mencionadas ni con la carga viral.

Conclusiones: En los pacientes con HGNA, pero no en aquellos con HCC, las concentraciones séricas de CD36s se correlacionan positivamente con el índice de masa corporal, la insulinorresistencia y el grado histológico de esteatosis, lo que sugiere que la determinación de CD36s podría ser de utilidad para la evaluación no invasiva del grado de esteatosis hepática en los pacientes con HGNA.

P-48. FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO-21 EN LA ENFERMEDAD GRASA DEL HÍGADO NO ALCOHÓLICA

M.L. García Torres, C. Montoliu, M. Civera, A. Urios, N. Cassinello, A. Escudero, F. Rodríguez, L. Flor, M.A. Serra y J.A. del Olmo

Hospital Clínico de Valencia. España.

Introducción: El factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF-21) es un péptido que interviene en la oxidación de los ácidos grasos y en la captación de glucosa. La enfermedad grasa del hígado no alcohólica (NAFLD) presenta dos formas -esteatosis y esteatohepatitis (NASH)- con diferente historia natural. El objetivo fundamental del estudio consiste en valorar si el FGF-21 se altera entre los pacientes con NAFLD y si nos puede diferenciar la esteatosis y el NASH.

Métodos: a) Pacientes: incluimos 33 pacientes con diagnóstico histológico de enfermedad hepática grasa no alcohólica, con edad media $47,45 \pm 8,2$ años de los que 28 son mujeres y 5 hombres. Grupo Control: 11 sujetos sin sobrepeso, diabetes ni alteración de lípidos y normalidad de ecografía hepática y elastografía impulsional. b) Estudio histológico: en la biopsia hepática de cada uno de los 33 pacientes determinamos el Nonalcoholic Fatty Liver Disease Score midiendo los grados de esteatosis, fibrosis, inflamación, lesiones de los hepatocitos y otras lesiones. c) Determinaciones clínico-analíticas: Valoramos el sexo, peso, edad, índice cintura-cadera y HOMA. En muestra venosa determinamos el FGF-21 (Elisa, Biovendor). También medimos glucemia, insulina, colesterol, Hb glicosilada, triglicéridos y otros marcadores (adiponectina, leptina, interleucinas 6 y 18 y CK-18Asp396). d) Introducimos los parámetros obtenidos en programa SPSS 17.0 y analizamos diferencias de valores cualitativos y cuantitativos (chi cuadrado, test t de Student) y correlaciones (r de Pearson).

Resultados: Los diagnósticos histológicos en los pacientes fueron: 21 esteatosis y 12 esteatohepatitis. Los pacientes con NAFLD mostraron valores más elevados de FGF-21 que el grupo control ($t = 2,18$; $p = 0,04$). Los pacientes con NASH presentaron valores más elevados ($t = 2,3$; $p = 0,03$) que los pacientes con esteatosis. Así mismo los valores de FGF-21 fueron estadísticamente superiores entre los pacientes con Índice cintura-cadera superior a 0,9 ($t = 2,1$; $p = 0,04$), y HOMA superior a 3 ($t = 2,2$; $p = 0,03$). Encontramos una correlación positiva del FGF-21 con la glucemia ($r = 0,688$), triglicéridos ($r = 0,560$), Hb glicosilada ($r = 0,750$), CK-18 ($r = 0,617$) y fibrosis hepática ($r = 0,574$) No encontramos correlación con adiponectina, leptina, ni interleucinas 6 o 18.

Conclusiones: 1. El factor de crecimiento fibroblástico-21 aumenta entre los pacientes con enfermedad grasa del hígado no alcohólica (NAFLD) y sobre todo entre los que presentan esteatohepatitis (NASH). 2. El FGF-21 se correlaciona con valores clínico-analíticos (índice cintura/cadera, HOMA, colesterol, hemoglobina glicosilada) y la CK-18-caspasa. 3. El incremento de FGF21 se correlaciona con el grado de fibrosis hepática.

Enfermedades colestásicas

P-49. LOS COLANGIOCITOS HUMANOS POLIQUÍSTICOS POSEEN UN INCREMENTO EN LA ACTIVIDAD METALOPROTEASA, LA CUAL ES ESTIMULADA POR INTERLEUCINA-6, INTERLEUCINA-8 Y ESTRÓGENOS

A.D. Urribarri^{a,b}, S. Sarvide^{a,b}, E. Sáez^{a,b}, A. Portu^{a,b}, J.P. Jimeno^c, T.V. Masyuk^d, J. Prieto^{a,b,e}, N.F. Larusso^d y J.M. Banales^{a,b,d}

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

^bCIBERehd.

^cCirugía HPB; ^eUnidad de Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

^dMiles and Shirley Fiterman Center for Digestive Diseases. Division of Gastroenterology and Hepatology. Mayo Clinic College of Medicine. Rochester. MN. EE.UU.

Introducción: Las enfermedades hepáticas poliquísticas (en inglés Polycystic Liver Diseases, PLDs) son trastornos genéticos caracterizados por fibrosis hepática, dilatación de los conductos biliares, y/o desarrollo de quistes biliares que pueden progresar en severidad, siendo la principal causa de mortalidad y requiriendo el trasplante hepático como única terapia. Recientemente hemos demostrado que la cystogénesis en las PLDs es consecuencia de la hiper-proliferación (Banales et al. Hepatology, 2009), hiper-secreción (Banales et al. American Journal of Pathology, 2008) y alteración en el patrón de microRNAs de los colangiocitos (Lee et al. Journal of Clinical Investigation, 2008). Aquí, postulamos que alteraciones en la interacción colangiocito-matriz extracelular pueden tener un papel importante en la cystogénesis de las PLDs. La interacción célula-matriz extracelular es un evento dinámico involucrado en muchos procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Así, no sólo juega un papel muy importante en embriogénesis y regeneración, sino también en cáncer y otras enfermedades, siendo una diana potencial de diagnóstico y terapia. La matriz extracelular es producida por las células que están en contacto con ella, y su deposición está regulada por la acción de diversas proteasas (i.e. metaloproteasas -MMPs-), inhibidores de proteasas (i.e. TIMPs) y hormonas.

Métodos: Para llevar a cabo este estudio, generamos cultivos primarios de colangiocitos de un individuo normal y de un paciente con poliquistosis hepática avanzada.

Resultados: Ensayos microfluorimétricos mostraron que los colangiocitos humanos poliquísticos poseen un incremento en la actividad MMP en comparación con los normales. Ello se asoció con un aumento de expresión, a nivel de RNAm, de distintas MMPs, de citoquinas proinflamatorias (i.e. interleuquina-6 y 8) y de factores de crecimiento (i.e. VEGF). Por otro lado, la expresión global de los TIMPs también se encuentra aumentada en los colangiocitos poliquísticos en cultivo en comparación con los normales. Diversas moléculas, cuyos niveles se encuentran aumentados en el fluido quístico de pacientes PLD, tales como la interleuquina-6, interleuquina-8 y estrógenos, estimularon la actividad MMP de los colangiocitos humanos normales y poliquísticos. Por otro lado, otras moléculas cuyos niveles también están aumentados en el fluido quístico de los pacientes con PLD (i.e. EGF, VEGF, HGF, ENA78 o GROa) no indujeron cambios en la actividad MMP. Finalmente, mediante microscopía confocal de fluorescencia hemos comprobado que la expresión de MMP2 se encuentra aumentada en los colangiocitos poliquísticos de pacientes PLDs en comparación con conductos biliares de individuos normales.

Conclusiones: Nuestros datos indican que la interacción colangiocito-matriz extracelular es un evento importante en la cystogénesis hepática de los pacientes con PLDs y puede constituir una terapia potencial para el tratamiento de estas enfermedades.

P-50. NIÑOS ESPAÑOLES CON DEFECTO DE FIC1

G. Muñoz-Bartolo^a, L. Álvarez^b, V. Botero^a, L. Hierro^a, A. de la Vega^a, M.D. Lledín^a, C. Camarena^a, E. Frauca^a, C. Díaz^a y P. Jara^a

^aServicio de Hepatología; ^bUnidad de Investigación. IDIPAZ. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid. España.

Introducción: Las colestasis intrahepáticas familiares (CIF) son enfermedades raras. El estudio genético en pacientes españoles afectados de la forma de CIF con GGT normal identificó 7 casos de defecto de FIC1.

Métodos: Los pacientes representan el 22.5% de una serie de 31 niños con CIF de GGT normal a los que se investigó la etiología mediante análisis mutacional de ATP8B1 y ABCB11. Los 7 niños con defecto de FIC1 en 6 casos tenían 2 mutaciones en ATP8B1, en 1 solamente se identificó un alelo con mutación. Fueron revisadas las características clínicas. El seguimiento de la enfermedad primaria osciló entre 2,5 y 7 años. Seis niños recibieron trasplante hepático (TH), con seguimiento post-TH de 11-17 años, todos sobrevivieron.

Resultados: 1. Enfermedad primaria. Familias: los casos ocurrieron en 5 familias españolas, 3 de ellas de etnia gitana, 4 consanguíneas. Mutaciones: los niños de etnia gitana tenían c.1367C > T (T456M) en 1 alelo (3 hermanos T456M/R602X) o en los 2 (2 niños). Otras mutaciones fueron Q913X/Q913X (1 caso) y H535R (1 caso). Presentación: todos manifestaron ictericia neonatal, 6 consultaron antes de 3 meses. La cifra de bilirrubina era 5,2-12,6 mg/dl, ALT 18-70 U/L, GGT 21-39 U/L. La biopsia precoz (5 casos) mostró ductopenia en 4/5, colestasis intrahepática en 5. Seguimiento: todos desarrollaron prurito antes de 1 año, severo y refractario a tratamiento. La ictericia disminuyó en algún periodo, con cifras mínimas de bilirrubina de 1,9-7 mg/dl. ALT fue siempre < 80 U/L, y la cifra de GGT se mantuvo normal. Ninguno desarrolló insuficiencia hepática. Al final del seguimiento todos presentaban hepatoesplenomegalia. Las complicaciones fueron raquitismo (3), fracturas (1), hipovitaminosis E (7), coagulopatía por defecto de vitamina K (1), diarrea aguda (7), sepsis (1), crecimiento retardado con talla inferior a P3 (5). El tratamiento médico no mejoró los síntomas. Seis recibieron TH por colestasis con mala calidad de vida, a edad de 3 a 7 años. El explante mostró cirrosis, sin ductopenia, en 2 con leve transformación gigantocelular. El último paciente atendido (T456M/T456M) fue tratado con derivación biliar externa parcial a los 11 meses de edad, con evolución a mejoría notable en los síntomas (desaparición de prurito e ictericia) mantenida en una evolución de 19 meses. 2. Evolución postrasplante hepático En los 6 niños hubo síndrome típico del defecto FIC1 postTH: 6 con diarrea crónica, en 5 esteatosis del injerto, en 2 pancreatitis. Un caso desarrolló adenocarcinoma de colon al año 12 post-TH (edad 19 años).

Conclusiones: El defecto de FIC1 en España muestra características semejantes a otras series descritas. Predominó la mutación T456M, involucrada en casos de etnia gitana. El único paciente (T456M/T456M) tratado con derivación biliar externa obtuvo excelentes resultados. Los trasplantados desarrollaron el síndrome característico de la entidad, y fue identificado 1 caso con adenocarcinoma de colon.

P-51. ACTIVIDAD AUTOTAXINA EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA. ASOCIACIÓN CON EL PRURITO Y LA DURACIÓN Y GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD

A. Parés^a, A.E. Kremer^b, L. Caballería^a, U. Beuers^b, R.O. Elferink^b y A. Mas^a

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

^bTytgat Institute for Liver and Intestinal Research. Academic Medical Center. Universidad de Amsterdam. Amsterdam. Países Bajos.

Introducción y objetivos: El prurito es una manifestación frecuente de las enfermedades colestásicas y se ha referido al ácido lisofosfatídico como potencial molécula implicada en la fisiopatología de este síntoma. Además se ha observado el aumento de la actividad circulante de autotaxina, el enzima implicado en la síntesis de ácido lisofosfatídico en pacientes con prurito. Sin embargo no hay suficiente información en pacientes con colestasis crónica. El objetivo de este estudio ha sido analizar la actividad autotaxina en el suero de pacientes con cirrosis biliar primaria, y la relación con el prurito y otras manifestaciones de la enfermedad.

Métodos: El estudio se ha efectuado en 164 pacientes (154 mujeres, edad media 59,5 ± 0,9 años) con CBP tratadas con 975 ± 14 mg/d de ácido ursodeoxicólico durante 10,1 ± 0,6 años. Se evaluó la presencia de prurito actual mediante una escala específica para CBP y el cuestionario PBC-40, además de las características clínicas y analíticas. Asimismo se registró si habían tenido prurito en algún momento de su enfermedad. La actividad autotaxina se evaluó en el suero mediante un método enzimático.

Resultados: Los niveles medios de autotaxina fueron de 9,1 ± 0,3 nM/mL.min. Según el valor normal (< 6,2 nM/mL.min), 129 pacientes (79%) tenían un aumento de la autotaxina. En el momento de la realización del estudio 54 pacientes (33%) tenían prurito, y 82 pacientes (50%) lo habían tenido en alguna ocasión. Los niveles elevados de autotaxina se relacionaron con la presencia de prurito actual o de prurito en alguna ocasión. La autotaxina estuvo elevada en 49 pacientes (91%) con prurito actual y en 80 pacientes sin prurito actual (73%) (OR: 3,7, IC95% 1,3-10,1; $\chi^2 = 7,0$; $p < 0,01$), así como en el 89% y el 68% de los pacientes que había o no presentado prurito en algún momento (OR: 3,8; IC95% 1,6-8,7; $\chi^2 = 10,5$; $p < 0,001$), respectivamente. Los pacientes con prurito y autotaxina elevada eran aquellos con una mayor duración de la enfermedad, más intensidad de la misma evaluada según el último fibroscan, y con una mayor índice de colestasis y de citolisis. El nivel de autotaxina de 8,5 nM/mL.min fue el mejor indicador de la presencia de prurito en el momento del análisis o en cualquier momento durante el curso de la CBP (AUC = 0,668 y 0,713, respectivamente). El análisis multivariado mostró que los factores independientes para una autotaxina elevada (> 8,5 nM/mL.min) eran el prurito en alguna ocasión, y la intensidad de la enfermedad evaluada según el fibroscan y los niveles elevados de fosfatasa alcalina. Asimismo, la autotaxina elevada entraba como variable independiente en todos los modelos multivariados para la presencia de prurito.

Conclusiones: La autotaxina está elevada en la mayoría de pacientes con cirrosis biliar primaria, y además del prurito se relaciona con la duración y la gravedad de la enfermedad evaluada según el fibroscan y los indicadores de intensidad de la colestasis.

P-52. CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN PACIENTES CON COLANGIOPATÍAS CRÓNICAS AUTOINMUNES: CIRROSIS BILIAR PRIMARIA (CBP), COLANGITIS ESCLEROSANTE PRIMARIA (CEP) Y COLANGITIS AUTOINMUNE (CAI)

A.R. Rubí^a, M. Trapero Marugán^a, L. García Buey^a, R. Moreno Otero^a, G. Vega^b, D. Camacho Fernández^b, S. Castañeda Sanz^a y E. Vicente Rabaneda^c

^aServicio de Gastroenterología y Hepatología; ^bUnidad de Apoyo Metodológico del Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IP); ^cServicio de Reumatología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

Objetivos: 1) Conocer la prevalencia de fracturas, osteoporosis (OP) y osteopenia y su asociación con la gravedad de la hepatopatía (Child-Pugh, MELD y fibrosis hepática por FibroScan®) en los pacientes estudiados. 2) Determinar si un T score < -1,5 identifica un umbral de riesgo incrementado de fractura en estos pacientes, estimar el riesgo absoluto de fracturas por herramienta FRAX® y analizar el cumplimiento de las recomendaciones sobre OP de la Guía de la EASL.

Métodos: Estudio observacional transversal en dichos pacientes atendidos en consultas de Digestivo entre 2010-11, evaluando densidad mineral ósea (DMO) por absorciometría dual de rayos X y la presencia de fracturas.

Resultados: La fractura vertebral se asoció ($p < 0,05$) a bilirrubina > 1,3 mg/dL, albúmina < 3,4 g/dL y estadio F4 por FibroScan, persistiendo significación al corregir por posibles factores de confusión. Se encontró asociación entre fractura de cadera y menopausia precoz, estadio F3 y presencia de OP lumbar y femoral ($p < 0,05$). T score < -1,5 no se correlacionó con presencia de fractura. El riesgo absoluto de fractura a 10 años por FRAX fue 6% para fractura mayor y 2% para la de cadera. De 107 pacientes incluidos inicialmente, 42% tenían DMO realizada. El 58% de los casos recibían tratamiento adecuado para prevenir fracturas según Guía EASL identificándose menos pacientes subsidiarios de este tratamiento según FRAX ($p = 0,001$).

Conclusiones: La prevalencia de OP y osteopenia tanto lumbar como femoral fue mayor que la descrita para la población española y los pacientes con fracturas presentaban estadios más avanzados de hepatopatía. En nuestra serie, el T-score < -1,5 no se asocia con mayor riesgo de fractura. La herramienta FRAX® identifica menos pacientes subsidiarios de recibir tratamiento para OP que la Guía EASL. Existe una proporción elevada de enfermos cuya patología ósea concomitante no está adecuadamente tratada según las guías actuales.

Tabla 1 Valores descriptivos

N = 45	Nº de pacientes	(%)
Edad media	57 ± 14 años	
Mujeres	38	84%
Menopáusicas	31	69
CBP	40	89
CAI	3	6,7
CEP	2	4,4
Fracturas		38
Fracturas no vertebrales	38	
Fracturas vertebrales	7	

Tabla 2 Valores de densidad mineral ósea (DMO)

	Pacientes con colangiopatías (IC95%)	Población femenina española de 50-59 años	p
DMO lumbar			
OP (T-score < -2,5)	24% (10-39)	9% (5-13)	0,01
Osteopenia (T-score < -1 y > -2,5)	49% (32-65)	42% (35-48)	No significativa
Normal (T-score ≥ -1)	27% (12-42)	49% (42,5-56)	0,01
DMO cuello femoral			
OP (T-score < -2,5)	11% (4-24)	1% (0,3-4)	0,002
Osteopenia (T-score < -1 y > -2,5)	60% (45-75)	39% (32-45)	0,006
Normal (T-score ≥ -1)	29% (14,5-43)	60% (53-66)	0,0001

P-53. EL FACTOR DE CRECIMIENTO SEMEJANTE A LA INSULINA TIPO I (IGF-I) AUMENTA LA PROLIFERACIÓN DE LOS CONDUCTOS BILIARES Y NO MEJORA LA FIBROSIS EN EL RATÓN ABCB4-/-

C.M. Rodríguez Ortigosa^{a,b}, A. Sokolovic^c, N. Juanarena^a, S. Arcelus^a, L. Ten Bloemendaal^c, R.P.J. Oude Elferink^c, P.J. Bosma^c y J. Prieto^{a,b}

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

^bCIBERehd.

^cTytgat Institute for Liver and Intestinal Research. Academic Medical Center. Universidad de Amsterdam. Países Bajos.

Introducción: Las colangiopatías crónicas progresan habitualmente hacia cirrosis. Ello, unido a las pocas opciones terapéuticas en esta situación, hace que el trasplante hepático sea el único tratamiento eficaz, pero las contraindicaciones quirúrgicas y la falta de donantes hacen urgente encontrar terapias alternativas frente a esta enfermedad. El factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-I) ha mostrado reducir la fibrosis en modelos de daño hepático en ratón, y en un ensayo clínico de fase 1 se observó mejoría de la función hepática en pacientes cirróticos. Aunque IGF-I actúa también sobre el epitelio biliar, su potencial beneficio en colangiopatías crónicas no ha sido estudiado. Así, la finalidad del estudio fue evaluar el posible efecto terapéutico de incrementar la expresión de IGF-I en un modelo crónico de patología de los conductos biliares.

Métodos: Se utilizó el ratón Abcb4^{-/-} (KO), caracterizado por la deficiencia en el transportador Abcb4 (mdr2), encargado de la secreción de fosfolípidos a bilis. La falta de fosfolípidos en bilis hace que las sales biliares no puedan formar micelas, y esto da lugar a lesiones hepáticas similares a las que se observan en la colangitis esclerosante primaria. Este ratón KO se cruzó con el ratón transgénico SMP8-IGF-I (IGF), en el cual la expresión de IGF-I está controlada por el promotor de la actina de músculo liso tipo alfa (α-SMA). De esta forma, la activación de α-SMA, inducida por el daño hepático, da lugar a la expresión de IGF-I. Así, mediante el cruce mencionado, se obtuvieron ratones que eran knock-out para Abcb4 y transgénicos para IGF-I (ratones KO-IGF). A estos ratones se les administró una dieta suplementada con colato (0.03%) durante 3, 6 o 12 semanas, para exacerbar el daño hepatobiliar y se estudió el efecto de la expresión de IGF-I sobre la progresión del daño, comparándolo con ratones pareados KO que recibieron el mismo tratamiento.

Resultados: A las 12 semanas de tratamiento, los ratones KO-IGF mostraron mayor fibrosis hepática que los ratones KO (mediante tinción de Rojo Sirio), que se vio acompañada por elevación de la hidroxiprolina hepática y por una mayor expresión de genes profibrogénicos (colágenos 1, 2 y 3, TGFβ y TIMPs 1 y 2). Asimismo, el

hígado de estos ratones mostró remodelación tisular disminuida, medida por la reducción en los niveles hepáticos de tPA a las 3 y 6 semanas de tratamiento, que fue acompañada por aumento de células que expresan CK-19, lo que sugiere mayor proliferación del epitelio biliar. Por último, también se observó mayor daño inflamatorio en los ratones KO-IGF, medido por el aumento de la expresión de TNFα y por el incremento en el infiltrado de macrófagos.

Conclusiones: A diferencia de lo que se observa en el daño hepatocelular asociado a fibrosis hepática, donde el IGF-I ha mostrado tener un marcado efecto antifibrogénico y hepatoprotector, la sobreexpresión de IGF-I no resulta beneficiosa en un modelo de colangiopatía crónica.

P-54. TRATAMIENTO COMBINADO CON ÁCIDO OBETICÓLICO Y ÁCIDO URSODEOXICÓLICO EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA. ESTUDIO DE EFICACIA Y SEGURIDAD A LARGO PLAZO

A. Parés^a, G.M. Hirschfield^b, A.L. Mason^b, S.C. Gordon^b, V.A. Luketic^b, M. Mayo^b, C. Vincent^b, K.D. Lindor^b, K.V. Kowdley^b, M. Trauner^b, M. Esguerra^c, O. Boehm^b y D.A. Shapiro^c

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

^bGrupo Internacional de Investigación.

^cIntercept Pharmaceuticals. San Diego. EE.UU.

Introducción y objetivos: El ácido obeticólico (OC), es un derivado sintético del ácido quenodeoxicólico, el agonista natural del receptor farnesoide X. Un estudio doble ciego (DB), controlado con placebo de OC añadido al tratamiento previo con ácido ursodeoxicólico (UDC) mostró una reducción significativa de la fosfatasa alcalina (FA) en comparación con placebo en la cirrosis biliar primaria (CBP) con respuesta subóptima al UDC (Mason et al. Hepatology. 2010;52:357A). Este estudio abierto de extensión se ha realizado para evaluar la seguridad y eficacia del OC a largo plazo.

Métodos: Han participado 78 pacientes con CBP que comenzaron con 10 mg al día de OC (si habían finalizado el tratamiento > 30 días después del ensayo DB) o en caso contrario la dosis previa de OC. La dosis se podía aumentar cada 8 semanas hasta llegar a 50 mg. La seguridad y eficacia del fármaco se evaluó al comienzo del estudio, antes y después de cada cambio de dosis y cada 3 meses. El estudio se interrumpió a los 21 meses.

Resultados: La duración media del estudio fue de 353 días (intervalo: 6-607). En cuanto a seguridad, 48 (62%) pacientes completaron el estudio, 13 pacientes (17%) interrumpieron el tratamiento por un efecto adverso (EA) (9 pacientes (12%), por prurito), 11 pacientes (14%) por razones administrativas y los otros 6 pacientes (8%) por otros motivos. La dosis finales diarias de OC fueron: = 10 mg en 38 casos (49%), > 10 a = 25 mg en 29 (37%) y > 25 a = 50 mg en 11 (14%)

pacientes. El EA más frecuente fue el prurito, que se observó en 71 pacientes (91%), y fue leve en 35%, moderado en 42%, e intenso en 23% de los casos. Los demás EA ocurrieron en < 20% de pacientes. Se constataron 5 EA graves no relacionados con el tratamiento (3 debido a enfermedades previas, una fractura de costilla y una atelectasia pulmonar). Los niveles iniciales de FA y de gamma-glutamyltransferasa (g-GT) fueron de 300 ± 148 U/L y 298 ± 365 U/L, respectivamente. En relación a eficacia terapéutica, los mayores cambios de los niveles de FA y de g-GT se observaron a los tres meses y se mantuvieron a lo largo del ensayo. Con la dosis de 10 mg de OC, los niveles medios de FA disminuyeron en -71 U/L (19%), y una mayor disminución se observó (-23 U/L (9%)) al aumentar de 10 a 25 mg. Por el contrario el paso de 25 a 50 mg de OC no produjeron cambios significativos de descenso de la FA. El aumento de la dosis de OC a 25 mg a 50 mg se asoció a una mayor incidencia de prurito o un empeoramiento del mismo en el 46% y el 17% de los pacientes, respectivamente.

Conclusiones: El tratamiento con ácido obeticolico es seguro y eficaz tras un periodo prolongado de tratamiento en la cirrosis biliar primaria, aunque se asocia a una elevada tasa de prurito. El fármaco disminuye la colestasis bioquímica de manera consistente y estable. El aumento de dosis desde 10 a 25 mg tiene un mayor efecto disminuyendo la fosfatasa alcalina pero con una incidencia e intensidad de prurito superior.

P-55. EL HAPLOTIPO HLA-DRB1*03,DQB1*02 SE ASOCIA CON MAL PRONÓSTICO DE LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA

A. Parés^a, M. Dubreuil^a, S. Ruiz-Gaspà^a, L. Caballería^a y G. Ercilla^b

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

Introducción y objetivos: Desde el primer análisis realizado en España (Ercilla et al. Tissue Antigens, 1979), otros estudios de diferentes áreas geográficas han mostrado una asociación entre los antígenos de histocompatibilidad (HLA) y el desarrollo de cirrosis biliar primaria (CBP). Sin embargo no hay un acuerdo general sobre si la presencia de alguno de estos trazos genéticos está relacionado previene o favorece la presencia de la enfermedad ni la relación con la gravedad, respuesta terapéutica y pronóstico. Por este motivo se ha investigado la potencial contribución de los antígenos HLA de clase II sobre la susceptibilidad, presentación, curso, respuesta terapéutica y pronóstico de la CBP.

Métodos: El genotipado HLA-DRB1 y -DQB1 se ha realizado en 154 pacientes españoles con CBP y 325 controles de la misma área geográfica. Se evaluaron las características clínicas, incluyendo los signos y síntomas de la enfermedad, el estadio histológico, la presencia de otras enfermedades autoinmunes, la respuesta terapéutica al ácido ursodeoxicólico y si fallecieron o fueron trasplantados.

Resultados: El HLA-DRB1*08 fue significativamente más frecuente en los pacientes con CBP, presente en 8,1% en comparación a los controles (2,6%) (OR 3,29, IC95%: 1,75-6,19, $p < 0,001$), al igual que se observó para el DRB1*07 (23,6% vs 16,0%, $p = 0,054$), mientras que el DRB1*15 fue menos prevalente en la CBP (6,5%) que en los controles (12,8%) (OR: 0,474; 0,29-0,79, $p = 0,04$). Los alelos DQB1*02 y DQB1*04 se asociaron con un elevado riesgo de CBP (OR 1,68, 1,25-22,25, $p = 0,005$, y 2,90, 1,59-5,29, $p < 0,001$, respectivamente). Por el contrario el DQB1*06 comportó un menor riesgo de CBP (OR 0,40, 0,35-0,72). El haplotipo DRB1*08,DQB1*04 se asoció con el desarrollo (OR: 2,86, 1,49-5,47, $p = 0,003$) mientras que el haplotipo DRB1*15,DQB1*06 (OR: 0,38, 0,21-0,66, $p < 0,001$) fue protector para la presencia de CBP. No se observó ninguna asociación con la respuesta terapéutica al ácido ursodeoxicólico, pero tanto la presencia de prurito (OR: 6,32, 1,99-19,99, $p = 0,001$) y astenia (OR: 3,81, 1,37-10,56, $p = 0,001$) fueron más frecuentes en los pacientes con el haplotipo DRB1*08,DQB1*04. Por otra parte, el

haplotipo DRB1*03-DQB1*02 se asoció con un mal pronóstico ya que los presentaban el 60% de los pacientes que fallecieron o fueron trasplantados y el 22% de los casos con buen curso (OR: 5,25; IC95%: 1,39-19,75, $p = 0,007$). No se observaron asociaciones con la presencia de síndrome de Sjögren ni con otras enfermedades autoinmunes presentes en la CBP.

Conclusiones: La asociación positiva del haplotipo DRB1*08-DQB1*04 con la cirrosis biliar primaria en pacientes españoles confirma las observaciones de otras áreas geográficas. Este haplotipo es más prevalente en pacientes que manifiestan prurito y astenia. Asimismo, el haplotipo DRB1*03,DQB1*02 es un indicador de mal pronóstico.

Hepatitis víricas

P-56. LA RESISTENCIA A LA INSULINA PREDICE LA RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA INDEPENDIENTEMENTE DEL POLIMORFISMO RS12979860 DE LA IL28B EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

L. Rojas^{a,b}, A. Rojas^{a,b}, M. Conde^c, M. García-Valdecasas^{a,b}, M. Maraver^{a,b}, J.R. García-Lozano^c, J.A. del Campo^{a,b} y M. Romero-Gómez^{a,b}

^aUnidad de Gestión Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas; ^bCIBERehd. Hospital de Valme. Sevilla. España.

^cUnidad de Inmunología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla. España.

Objetivos: Determinar si la resistencia a la insulina predice la respuesta virológica sostenida (RVS) independientemente del polimorfismo de la IL28B en una cohorte de pacientes con hepatitis C crónica tratados con peginterferón más ribavirina (P+R).

Métodos: Se ha determinado el genotipo de la rs12979860 IL28B en una cohorte de pacientes españoles con anti-HCV y HCV-RNA positivos tratados con terapia estándar. La resistencia a la insulina fue calculada con la fórmula $[HOMA-IR = \text{Insulina (IU/ml)} \times \text{glucosa (mmol/L)}] / 22,5$. A todos los pacientes se les determinó el genotipo (Innolipa), la carga viral (Taqman) y se utilizó la escala Scheuer para valorar el grado de fibrosis histológica. Los distintos factores predictivos de RVS se analizaron estadísticamente mediante una regresión logística binaria.

Resultados: En una corte de 233 pacientes [85,8% genotipo 1/4, 32,3% fibrosis avanzada, 89,7% carga viral alta, 30,8% genotipo CC IL28b y 40% con HOMA > 2] tratados con P+R con una proporción de RVS 120/233 (52%). El análisis univariante de las diferentes factores predictivos de RVS mostró que el genotipo viral (genotipo 1/4: 47,5% vs genotipo 2/3: 75,7%; $p = 0,003$), grado de fibrosis (F0-F1: 75,5% vs F2: 45% vs F3-F4: 35,2%; $p = 0,001$), HOMA (HOMA < 2 60% vs HOMA > 2: 38,6%; $p = 0,013$) y IL28b (genotipo CC: 72% vs genotipo CT/TT: 39%; $p = 0,003$) están asociados significativamente con la RVS. En el análisis multivariante las variables independientes asociadas fueron: Fibrosis O.R.: 1,7 (IC95%: 1,16-2,51), $p = 0,007$; HOMA-IR OR: 2,41 (IC95%: 1,02-5,7), $p = 0,04$ y el genotipo CC de la IL28b OR: 2,64 (IC95%: 1,08-6,42), $p = 0,03$. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa, insulina o el índice HOMA entre los genotipos CC, CT y TT de la IL28b.

Conclusiones: La resistencia a la insulina predice la respuesta viral sostenida independiente del genotipo de la IL28b. La fibrosis, la viremia y la resistencia a la insulina no están asociadas con el polimorfismo rs12979860 de la IL28B y son factores predictivos independientes de RVS.

P-57. LA LIPOGÉNESIS MEDIADA POR LXRALPHA INDUCIDA POR LAS PROTEÍNAS NS5A Y CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C REGULA LA REPLICACIÓN VÍRICA EN UN MODELO IN VITRO

S. Pisonero-Vaquero^a, M.V. García-Mediavilla^{a,b}, F. Jorquera^c, P.L. Majano^{b,d}, J. González-Gallego^{a,b} y S. Sánchez-Campos^{a,b}

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

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

^cDepartamento de Gastroenterología. Complejo Universitario Asistencial de León. España.

^dUnidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

Introducción: Los receptores X hepáticos (LXR) actúan como señalizadores celulares de genes lipogénicos. Nuestro grupo ha descrito que la replicación del virus C induce acumulación intracelular de lípidos y la sobreexpresión de los principales genes lipogénicos, efecto mediado por la inducción y activación transcripcional de LXRalpha. Además, las proteínas core y NS5A contribuyen a la lipogénesis mediada por el LXRalpha, pudiendo afectar a la replicación eficiente del VHC y a la progresión de la hepatitis C. Distintos flavonoides parecen ser capaces de inhibir la replicación del VHC y de reducir la expresión de genes lipogénicos.

Objetivos: Evaluar los mecanismos de regulación de LXRalpha por las proteínas víricas. Estudiar los efectos de la modulación del LXRalpha sobre la lipogénesis y la capacidad de replicación del VHC y de la administración de diversos flavonoides sobre dichos parámetros.

Métodos: Se utilizaron células Chang liver (CHL) transfectadas establemente con la proteína core (CHL-core) y NS5A (CHL-NS5A) del VHC, así como células Huh7 que contienen el replicón vírico completo del VHC (genotipo 1b) (HCV-G1). Los estudios de colocación y co-inmunoprecipitación de LXRalpha con las proteínas víricas se realizaron mediante microscopía de fluorescencia y western blot, respectivamente. La inhibición de la vía fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) con LY294002 (50 µM) se comprobó evaluando la fosforilación de AKT (western blot). La modulación del LXRalpha se llevó a cabo utilizando siRNA (10 nM) y el agonista GW3965 (5 µM). Las células HCV-G1 se trataron con quercetina (Q), kaempferol (K), taxifolina (T) o apigenina (A) (0,1-5 µM).

Resultados: No se observó asociación física entre las proteínas del VHC y LXRalpha. La sobreexpresión de LXRalpha resultó inhibida (ARNm/proteína: CHL-NS5A: -45%/-81%, CHL-core: -58%/-68%, HCV-G1: -46%/84%, respecto a no tratadas) al reducirse la activación de AKT (pAKT/AKT: CHL-NS5A: -91%, CHL-core: -72%, HCV-G1: -79%). El silenciamiento o la inducción de la expresión del LXRalpha en HCV-G1 regula los principales genes lipogénicos (ARNm siRNA/GW3965: LXRalpha -92%/+361%, SREBP-1c -79%/+337%, PPARGgamma -72%/+273% y FAS -77%/+154%) y la replicación del virus (siRNA: -35%; GW3965: +160%). El tratamiento con flavonoides (< 1 µM/L) redujo la replicación del virus (1 µM, Q: -44%, K: -47%, T: -59%, A: -31%) e inhibió parcialmente la expresión de LXRalpha (1 µM, Q: -16%, K: -22%, T: -14%, A: -14%).

Conclusiones: La lipogénesis inducida por las proteínas NS5A y core mediada por LXRalpha puede contribuir a la esteatosis hepática asociada a hepatitis C y a la eficiencia de la replicación del VHC. Además, nuestros resultados indican que los flavonoides parecen modular la replicación del VHC, pudiendo contribuir la regulación de LXRalpha en dicho proceso.

Financiado por BFU2010-15784, SAF2007-60667, FEDER (PI10/00101) y GRS 482/A/10. CIBERehd está financiado por el Instituto de Salud Carlos III.

P-58. DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN BIOPSIAS HEPÁTICAS DE PACIENTES CON RECURRENCIA DE LA INFECCIÓN DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

L. Mensa^a, S. Pérez del Pulgar^a, G. Crespo^a, G. Koutsoudakis^a, C. Fernández^a, R. Miquel^b y X. Forns^a

^aUnidad de Hepatología. CIBERehd. IDIBAPS; ^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. España.

Introducción: La cirrosis asociada al virus de la hepatitis C (VHC) es la principal indicación de trasplante hepático (TH). Actualmente, no existen estrategias para prevenir la infección del nuevo órgano, siendo la recurrencia de la hepatitis C universal después del TH. La detección de antígenos del VHC en biopsias hepáticas puede ser de gran interés para entender la patogenia de la recidiva de la hepatitis; sin embargo, actualmente no se dispone de técnicas capaces de detectar los antígenos del VHC de forma reproducible.

Objetivos: Detectar la expresión de antígenos del VHC en biopsias de hígado de pacientes con recidiva de infección después del TH.

Métodos: Se seleccionaron 32 pacientes con recidiva de la hepatitis C después del TH. La detección de los antígenos virales core y NS5a se realizó en biopsias hepáticas paraфинadas obtenidas durante la reperusión del nuevo órgano (control negativo), durante la fase aguda de la infección (rango 1-6 meses) y durante el seguimiento (un año o más después del TH), mediante un sistema de detección inmunohistoquímico altamente sensible. Paralelamente, se adquirieron imágenes de inmunofluorescencia por microscopía confocal y se realizaron estudios de colocación utilizando el programa Imaris.

Resultados: Todas las biopsias de reperusión fueron negativas para las proteínas core y NS5a. El 82% de las biopsias obtenidas durante la fase aguda fueron positivas para los dos antígenos. En cuanto a las biopsias de seguimiento, todas las muestras de los pacientes tratados y curados después del TH fueron negativas para core y NS5a, mientras que el 50% de las biopsias de los pacientes no curados fueron positivas para los antígenos virales. El porcentaje de hepatocitos positivos para la proteína core fue del 14% (rango 1-68%) y del 4% (rango 0,4-30%) en las biopsias de la fase aguda y crónica, respectivamente. Respecto a la distribución del marcaje, se observaron hepatocitos infectados por toda la sección, con tendencia a localizarse en áreas periportales. La tinción fue principalmente hepatocelular, con un patrón citoplasmático granular y diferentes grados de intensidad. En algunos hepatocitos se observaron estructuras circulares tipo "donut", de acuerdo con la localización de core y NS5a alrededor de los "lipid droplets" descrita en la bibliografía. El análisis detallado de las imágenes del microscopio confocal nos permitió determinar el grado de colocación entre los dos antígenos en el citoplasma celular (> 60%) y la posición relativa de core y NS5a en estas estructuras, situando al core en la parte interior y a NS5a en la periferia.

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que es posible detectar antígenos del VHC en muestras de hígado paraфинadas mediante técnicas inmunohistoquímicas. Asimismo, la ausencia de core y NS5a en las biopsias de reperusión, junto con la colocación de ambas proteínas sugieren que la tinción es específica.

P-59. INTERACCIÓN DE LOS RESIDUOS BÁSICOS DE LA GLICOPROTEÍNA E2 DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON LOS RECEPTORES VIRALES Y LOS ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES

G. Koutsoudakis, J. Dragun, S. Pérez del Pulgar, M. Coto-Llerena, L. Mensa, G. Crespo, M. Navasa y X. Forn

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

Introducción: Los aminoácidos básicos se encuentran en posiciones específicas y conservadas en la glicoproteína E2 del virus de la hepatitis C (VHC). Además, la región hipervariable 1 del E2 (HVR1) también es rica en aminoácidos básicos y está implicada en la entrada del VHC.

Objetivos: Investigar el papel de los residuos básicos de la glicoproteína E2 durante la entrada del VHC.

Métodos: Se generó una batería de mutantes a alanina en el contexto de cultivo celular del VHC. Además, se incluyó un mutante de delección de la HVR1 (delta-HVR1). Se realizaron ensayos de infección y neutralización utilizando heparina (análogo del heparán sulfato) y anticuerpos neutralizantes contra los receptores (CD81 y SR-BI) y contra la proteína E2 (anticuerpo monoclonal AR3A e IgGs derivadas de pacientes infectados por el VHC).

Resultados: Dos residuos básicos de la región HVR1 (H386 y R408) y los aminoácidos H488 y R648 contribuyeron a la interacción entre la proteína E2 y el heparán sulfato. La interacción entre el VHC y el receptor CD81 no se vio afectada por ninguno de los mutantes analizados. Por otra parte, las mutaciones H386A, R408A y H488A alteraron la entrada del VHC mediada por el receptor SR-BI. Finalmente, tanto los mutantes de los residuos básicos de la región HVR1 como el mutante delta-HVR1 alteraron la neutralización por el anticuerpo AR3A y por las IgGs derivadas de pacientes. Este fenotipo podría ser una consecuencia de la menor asociación del VHC con las lipoproteínas.

Conclusiones: Existe una interacción compleja entre los aminoácidos básicos ubicados en la región HVR1 y en determinados motivos conservados de E2 con el heparán sulfato, el SR-BI y los anticuerpos neutralizantes. Nuestros resultados sugieren que esta interacción podría estar mediada por el grado de asociación del VHC con las lipoproteínas.

P-60. EL ANÁLISIS PROTEÓMICO DE LA INFECCIÓN POR HEPATITIS C EN UN MODELO IN VITRO REVELA UNA NUEVA POSIBLE DIANA TERAPÉUTICA: TCTP

I. Ranchal^{a,b}, J.A. del Campo^{a,b}, E. Rodríguez-Suárez^c, M. García-Valdecasas^{a,b}, F. Elortza^c y M. Romero-Gómez^{a,b}

^aCIBERhd.

^bUnidad de Gestión Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas. Hospital de Valme. Sevilla. España.

^cCIC-BioGune. Proteomics Department. España.

Introducción y objetivos: Está bien establecido que el virus de la hepatitis C (VHC) perturba el metabolismo de la glucosa, lo que lleva a la resistencia a la insulina y, en individuos predispuestos, la diabetes tipo 2. Dichas alteraciones aceleran la progresión de la fibrosis, aumentando la incidencia de carcinoma hepatocelular y empeorando la respuesta al tratamiento con interferón alfa (IFN- α). El VHC interacciona con elementos de la vía de señalización dependiente de insulina, alterando su expresión génica y promoviendo distintas interacciones. Este trabajando pretende, mediante un abordaje proteómico, el análisis de elementos implicados en el proceso de infección por el VHC empleando un sistema "in vitro" que permita la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Métodos: Las líneas celulares Huh7.5 se cultivó en medio DMEM suplementado con FBS al 10%, antibióticos, L-glutamina y aminoácidos no esenciales. Las partículas infectivas de JFH-1 se añadieron a las células en una proporción de una partícula/célula. Los extractos de proteínas se digirieron y cuantificaron mediante LC-MS. Los datos fueron adquiridos y se cuantificaron con un método de análisis de scanning utilizando un sistema de cromatografía NanoAcquity LC de fase reversa conectado a un espectrómetro de masas QToF Premier (Waters Corporation). Los datos se procesaron y sometieron a una búsqueda en base de datos y se cuantificaron mediante ProteinLynx Global Server v2.4 y el paquete informático ExpressionE (Waters Corporation). La expresión génica se ha determinado mediante PCR semi-cuantitativa en tiempo real, previa extracción de RNA total.

Resultados: En el análisis proteómico se identificaron y cuantificaron un total de 232 proteínas, con un nivel FDR inferior al 1%. Se encontró que 32 proteínas estaban desreguladas en presencia de partículas de JFH-1 respecto al control, exhibiendo un cambio de la expresión superior a 1,3 veces y coeficiente de variación inferior al 10%. Entre las proteínas inducidas en presencia de JFH-1, se identificó la proteína TCTP (Transcription Controlled Tumor Protein). El gen que codifica para esta proteína (TPT1) se encontró claramente inducido en células infectadas por JFH-1, especialmente en presencia de interferón α y rapamicina.

Conclusiones: Mediante una aproximación proteómica, se ha identificado una proteína que podría estar implicada en el proceso de infección por VHC en un modelo in vitro. Las posibles interacciones de esta proteína con otras bien conocidas abre la posibilidad de emplearla como una nueva diana terapéutica en el tratamiento de la hepatitis C.

P-61. IMPORTANCIA DEL NÚMERO DE MUTACIONES DE LA REGIÓN NS5A-ISDR DEL VHC-GENOTIPO1 EN LA RESPUESTA VIROLÓGICA DE LOS PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C NO RESPONDADORES A TRATAMIENTOS PREVIOS

P. Muñoz de Rueda^{a,b}, R. Quiles^{a,b}, A. Gila^b, J.M. Fuentes^c, J. Casado^b, E. Pavón^b, J. León^{a,b}, L. Sanjuán^b, A. Palacios^{a,b,d}, E. Ruiz Lozano^b, A. Ruiz Extremera^{a,e,f} y J. Salmerón^{a,b,d}

^aCIBERhd.

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

^cC.S. Mirasierra. Distrito Sanitario Granada. España.

^dDepartamento de Medicina; ^eDepartamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España.

^fServicio de Pediatría. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

Introducción: El tratamiento de los pacientes con hepatitis crónica C (HCC) no respondedores (NR) a tratamientos previos supone hoy en día un gran reto a pesar de los últimos avances terapéuticos con la inclusión de los denominados STAT-C. Dos grupos de pacientes tienen pocas posibilidades de alcanzar una RVS: los respondedores nulos y los pacientes con RVparcial. Los factores predictivos más importantes de RVS en pacientes NR previos son la dinámica viral durante el tratamiento previo, el tipo de tratamiento y el genotipo viral. Los mecanismos de resistencia del VHC a la terapia antiviral también influyen en la ausencia de RVS, como el número de mutaciones en la región VHC-NS5A. No existen claras recomendaciones a la hora de retratar a los pacientes NR, de ahí la importancia de encontrar estrategias terapéuticas eficaces e individualizadas.

Objetivos: Estudiar la evolución del número de mutaciones en las regiones NS5A-ISDR y PKRBD en los consecutivos tratamientos de pacientes NR a uno o varios ciclos de tratamientos, para analizar

si un cambio en el número de mutaciones favorece la RVS.

Métodos: Estudio de cohortes retrospectivo. De una cohorte de 478 pacientes con HCC genotipo1 (1991-2010), se han incluido 68 pacientes retratados, no respondedores a uno o varios ciclos de tratamientos. El número total de tratamientos fue 166: 31% IFN-a; 40% IFNa+RBV; 29% pegIFN+RBV; en todos se disponía de suero basal (-80 C) de los consecutivos tratamientos.

Resultados: 26 (38%) pacientes presentaron en algún momento una RVS (8% IFN-a, 50% IFN-a+RBV y 42% pegIFN+RBV), mientras que 42 (62%) fueron no-RVS. De los 140 tratamientos con no-RVS: 32% fueron respondedores nulos, 9% RVparcial, 20% recidiva y 39% con no-RVS conocida debido a no disponer de la cinética viral. Los re-tratamientos con carga viral (CV) previa < 600.000 UI/ml tenían más posibilidades de RVS (OR = 9,2, IC95% = 3,2-26, $p < 0,0001$). La media de mutaciones en ISDR y PKRBD fue superior en las muestras previas a los tratamientos que alcanzaron una RVS (ISDR: $2,38 \pm 0,5$ vs $1,02 \pm 0,1$, $p = 0,014$; PKRBD: $5,8 \pm 0,6$ vs $4,3 \pm 0,2$, $p = 0,04$). En los casos que se detectaron un aumento de = 1 mutación en ISDR con respecto al tratamiento anterior, había más probabilidad de alcanzar una RVS (OR = 3,6, IC95% = 1,1-12, $p = 0,03$). Cuando la CV previa al tratamiento fue = 600.000 UI/ml ($n = 65$), la probabilidad de RVS era: 30%, 11% o 0% dependiendo de que las mutaciones en ISDR aumenten, no cambien o disminuyan, respectivamente. Mientras que, si la CV previa fue < 600.000 UI/ml ($n = 25$) las probabilidades de RVS dependiendo de las mutaciones fue: 100%, 47% o 67% ($p < 0,001$), respectivamente.

Conclusiones: En pacientes no respondedores a IFN-a o IFNa+RBV, las variables asociadas con la RVS fueron la CV baja (< 600.000 UI/ml) y el aumento de = 1 mutaciones en ISDR. Por lo tanto, se debería considerar el re-tratamiento solo en los pacientes con estas características. Sería necesario comprobar estos datos con la triple terapia.

P-62. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES MINORITARIAS REPRESENTATIVAS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) MEDIANTE TÉCNICA DE COLD-PCR

A. Madejón^a, M. Sánchez-Carrillo^a, M. Romero^a, V. Soriano^b y J. García-Samaniego^a

^aUnidad de Hepatología. CIBERehdM; ^bDepartamento de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

Introducción: La identificación de especies minoritarias del VHC es importante para monitorizar la respuesta al tratamiento con los nuevos inhibidores de la proteasa (IPs). Las técnicas de secuenciación poblacional y LIPA tienen límites de detección bajos. En el otro extremo, el alto nivel de penetración de las técnicas de pirosecuenciación puede llegar a dificultar la interpretación clínica de los resultados. El desarrollo de técnicas con niveles intermedios de sensibilidad podría ser una alternativa interesante desde el punto de vista clínico.

Objetivos: Desarrollar una técnica de amplificación de la región de la proteasa del VHC basada en la técnica de COLD-PCR que permite la amplificación selectiva de las especies minoritarias más representativas de la población viral (Nature Med. 2008; 14:579-84).

Métodos: La técnica de COLD-PCR se optimizó analizando mezclas con distintos niveles de riqueza (20%, 10%, 5%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,001%) de plásmidos que contenían fragmentos de la región NS3 del VHC con diferentes mutaciones de resistencia a IPs (V36A, T54A, R155K, A156S). Asimismo, se analizaron muestras basales de suero de 20 pacientes con hepatitis crónica C (10 coinfectados por VIH tratados con atazanavir y lopinavir). Todas las muestras se analizaron por RT-PCR y COLD-PCR en presencia de SYBR-Green y los amplicones se analizaron por secuenciación poblacional.

Resultados: El límite de sensibilidad de la técnica de COLD-PCR se situó en el 0,5% cuando se analizaron mezclas simples de 2 especies de DNA y descendió al 1% al analizar mezclas complejas de 5 especies diferentes de DNA. Ninguna muestra analizada por RT-PCR presentó mutaciones en las posiciones asociadas a resistencia a IPs. En 10 (7 VIH+) la técnica de COLD-PCR seleccionó poblaciones amplificadas diferentes a las obtenidas por RT-PCR. En 2 pacientes VHC/VIH+ se identificaron mutaciones de resistencia (V36A y T54A, respectivamente) tanto en las muestras basales como en adicionales después de iniciar el tratamiento antirretroviral. Además, en otros 5 pacientes (2 VIH+) se observaron otros cambios en posiciones asociadas a resistencia (F43A, F43T, T54V, A156L y V170S). Las señales de amplificación por COLD-PCR aparecieron de forma tardía en los últimos 6 ciclos del proceso reflejando la baja concentración de las especies amplificadas. El análisis de los productos amplificados mediante curva de melting mostró que las muestras de pacientes VHC/VIH+ presentaban mayor complejidad (numerosos picos de amplificación) que los VHC/VIH-, en los que se observó un único pico de amplificación.

Conclusiones: La técnica de COLD-PCR permite identificar especies minoritarias con una representatividad de aproximadamente el 1% en el 50% de las muestras de pacientes con hepatitis C. En los pacientes VHC/VIH+ en tratamiento antirretroviral se observó una mayor complejidad de la población amplificada incluyendo 2 pacientes con mutaciones de resistencia a boceprevir y telaprevir.

P-63. PAPEL DEL RECEPTOR TIE2 EN LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS MEDIADA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

S. Martín Vélchez^a, Y. Rodríguez Muñoz^b, R. López Rodríguez^b, A. Hernández Bartolomé^b, F. Molina Jiménez^b, R. Aldabe^c, L. García-Buey^d, R. Moreno-Otero^d y P. Sanz-Cameno^d

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

^bUnidad de Biología Molecular; ^cServicio de Gastroenterología y Hepatología. IIS La Princesa. CIBERehd. ISCIII. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

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

Introducción: La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es una de las principales causas de hepatitis crónica, fibrosis, cirrosis y hepatocarcinoma. La activación de las células estrelladas hepáticas (CEHs) es crucial para el inicio de la fibrosis. Aunque la asociación entre la hepatitis crónica C y el desarrollo de hepatocarcinoma se ha descrito ampliamente, los mecanismos moleculares implicados necesitan ser esclarecidos y estudiados con mayor detalle. Nuestro grupo ha descrito con anterioridad la inducción paracrina de la expresión del receptor de angiotensinas Tie2 en las CEHs con medios procedentes de replicones del VHC.

Objetivos: Investigar el papel etiopatogénico del receptor Tie2 en el proceso de fibrosis hepática mediada por el VHC y estudiar la ruta de señalización celular implicada.

Métodos: La línea de CEHs humana LX2 se co-cultivó/expuso a medios condicionados procedentes de replicones genómicos del VHC generados en la línea de hepatoma Huh-7 y se analizó la expresión de alfa actina de músculo liso (alfa-SMA), colágeno I, Tie2 y la expresión y actividad metaloproteasa 2 (MMP2). Asimismo, se estudió la influencia de los replicones del VHC en la migración de las CEHs y la participación del receptor Tie2 y sus ligandos, angiotensinas 1 y 2, en este proceso. Por último, se emplearon diversos inhibidores para evaluar la vía de señalización celular implicada.

Resultados: Los medios condicionados procedentes de los replicones-VHC promovieron un incremento de la expresión de alfa-

SMA, COL-I y Tie2, así como de la actividad metaloproteasa 2, en las CEHs, en comparación con las incubadas con los medios procedentes de la línea parental Huh-7. Se observó un aumento de la capacidad migratoria de las CEHs expuestas a los replicones-VHC que no se detectaba en las co-cultivadas con Huh-7. El bloqueo de Tie2 con un anticuerpo neutralizante específico provocó un descenso de la tasa de migración de las CEHs; sin embargo, su estimulación con Ang1 y Ang2 no causó ningún efecto significativo sobre las CEHs. Los inhibidores de la vía de las MAPKs, tanto en los medios condicionados, como en los cocultivos, ocasionaron un descenso de la expresión de Tie2 unido a una disminución de la activación y migración de las CEHs.

Conclusiones: El VHC es capaz de activar a las CEHs e incrementar su capacidad migratoria y actividad MMP2, vía Tie-2. La participación de la ruta de las MAPKs en estos procesos puede representar una importante diana terapéutica.

P-64. LA PROTEÍNA DE FUSIÓN ENTRE EL LIGANDO NATURAL DE TLR4 EDA Y LA ESTREPTAVIDINA PERMITE SU CONJUGACIÓN A LA PROTEÍNA BIOTINILADA NS3 DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C E INDUCE UNA RESPUESTA CELULAR T CD8+ ANTIVIRAL

L. Arribillaga^{a,b}, M. Martínez^c, L. Villanueva^c, M. Durantez^a, F. Borrás-Cuesta^a, P. Sarobe^a, J. Prieto^{c,d} y J.J. Lasarte^a

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

^bDigna-Biotech.

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

^dCIBERehd.

La activación de una respuesta inmune celular frente al virus de la hepatitis C (VHC) es de gran importancia para la profilaxis y el tratamiento de la infección crónica C. En trabajos previos, nuestro grupo ha demostrado que el dominio extra A de la fibronectina (EDA), un ligando endógeno de TLR4, puede actuar como un excelente adyuvante de vacunación para la inducción de linfocitos T citotóxicos. Así, la fusión de EDA a un antígeno favorece su captación por las células presentadoras de antígeno TLR4+, activando su maduración, la producción de citoquinas proinflamatorias, la presentación de antígeno y la activación de una respuesta celular CD8+ frente al antígeno. En este trabajo hemos construido una proteína de fusión entre EDA y la estreptavidina (EDAvidina) que facilite su unión a cualquier antígeno biotinilado con el objetivo de aumentar la inmunogenicidad del antígeno a través de las propiedades adyuvantes de EDA. Hemos producido la proteína EDAvidina y demostrado su capacidad de conjugarse con antígenos biotinilados sin alterar las propiedades proinflamatorias de EDA. La afinidad de EDAvidina para unirse a la biotina es del mismo orden que la de la estreptavidina nativa. Hemos observado que la EDAvidina unida a la proteína GFP biotinilada favorece su captación por las células dendríticas TLR4+. La inmunización de ratones transgénicos HHD (que expresan la molécula humana HLA-A2) con EDAvidina conjugada con la proteína NS3 del virus de la hepatitis C biotinilada permite la inducción de una fuerte respuesta inmune celular CD8+ frente a epítopos de la proteína NS3. Podemos concluir que la EDAvidina es una plataforma adyuvante para el desarrollo de una vacuna frente a la infección por el virus de la hepatitis C.

P-65. EVOLUCIÓN DE LA ALT Y DE LA CARGA VIRAL DURANTE LA GESTACIÓN, PARTO Y PUERPERIO EN GESTANTES INFECTADAS CRÓNICAMENTE POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) Y SU RELACIÓN CON TRANSMISIÓN VERTICAL

A. Ruiz-Extremera^{a,b,c}, J.A. Muñoz-Gámez^d, M.A. Salmerón-Ruiz^e, P. Muñoz^{a,d}, R. Quiles^{a,d}, A. Carazo^d, J. Casado^d, A. Gila^{a,d}, A. Martín^d, E. Pavón^d, E. Ocete^{a,b} y J. Salmerón^{a,d,f}

^aCIBERehd.

^bServicio de Pediatría; ^dUnidad Clínica de Aparato Digestivo. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

^cDepartamento de Pediatría; ^eDepartamento de Medicina.

Facultad de Medicina. Universidad de Granada. España.

^fUnidad de Pediatría. Hospital La Paz. Madrid. España.

Introducción: La evolución de la infección crónica por VHC durante la gestación y puerperio no está claramente definida. En este periodo, la respuesta inmune Th1 se encuentra reprimida y puede afectar al curso de la enfermedad.

Objetivos: Determinar la evolución de la enfermedad viral durante la gestación y puerperio en un modelo natural de represión y restitución de la respuesta inmune, así como su potencial relación con la transmisión vertical del VHC.

Métodos: Se reclutaron 122 madres gestantes seguidas en el Hospital Universitario San Cecilio entre los años 1991 y 2009. 89 madres fueron VHC-RNA+vo y 33 VHC-RNA-vo/VHC antiVHC+vo. Se analizaron los niveles séricos de ALT y carga viral durante intervalos regulares en el embarazo, en el parto y se finalizó un año después de la gestación. En los recién nacidos se midieron los niveles séricos de VHC-RNA a intervalos regulares desde el nacimiento hasta los 6 años de edad. A los niños positivos se les determinó el genotipo viral. Se asumió transmisión vertical cuando los niños presentaron VHC-RNA+vo en dos muestras de sangre consecutivas. Finalmente, se determinó el polimorfismo de la IL28B en las madres y en sus hijos.

Resultados: Los niveles séricos de ALT permanecieron normales durante la gestación y el parto, tanto en las madres VHC-RNA+vas como en las VHC-RNA-vas (< 40 UI/mL). Las madres HCV-RNA+vas presentaron un incremento estadísticamente significativo en los niveles séricos de ALT a los 6 meses tras el parto con respecto a las HCV-RNA-vas (98,3 vs 34,5 UI/mL, $p < 0,001$). El 67% de las gestantes HCV-RNA+vas, presentaron niveles elevados de la ALT en el posparto (> 40 UI/mL, clasificadas como madres tipo A) y este evento se correlacionó con un descenso en el puerperio de su carga viral con respecto al parto (descenso en madres tipo A = $2,4 \times 10^6$ UI/mL vs madres tipo B = $1,1 \times 10^4$ UI/mL, $p < 0,05$). El 79% de las madres tipo A presentaron niveles altos de la carga viral en el parto (> 600.000 UI/mL) frente al 10% de las tipo B ($p = 0,01$). La tasa de transmisión vertical fue del 20% pero solo el 7% de los niños permanecieron crónicamente infectados. Las madres tipo B con baja carga viral (< 600.000 UI/mL) presentaron una tasa de transmisión vertical del 5% frente al 20% del resto de madres ($p < 0,05$). No se observó ninguna diferencia significativa con respecto a la edad, la etiología, el polimorfismo de IL28B y el genotipo viral entre ambos tipos de madres.

Conclusiones: La mayoría de las mujeres VHC-RNA+vas en el puerperio, sufren un aumento de ALT con descenso de la carga viral, posiblemente por la restitución de la inmunidad Th1. Existe una relación directa entre alta carga viral en el parto e incremento en los niveles de ALT. Las madres tipo B con carga viral baja presentan la tasa de transmisión vertical más baja.

P-66. IDENTIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE CCCDNA EN LÍNEAS CELULARES INFECTADAS POR VHB EN AUSENCIA DE SECUENCIAS PLASMÍDICAS. UTILIDAD POTENCIAL COMO MODELO EXPERIMENTAL IN VITRO

A. Madejón, M. Sánchez-Carrillo y J. García-Samaniego

Unidad de Hepatología. CIBERehd. Hospital Carlos III. Madrid. España.

Introducción: Los estudios de replicación in vitro del virus de la hepatitis B (VHB) se ven dificultados por la ausencia de modelos experimentales que soporten la síntesis de la forma episomal cccDNA y la posterior expansión viral en el cultivo celular. En este estudio se ha investigado la inducción de una infección productiva de formas cccDNA del VHB en cultivos celulares en ausencia de secuencias plasmídicas.

Métodos: Como fuente de partículas virales infecciosas se utilizaron dos muestras de suero de pacientes HBsAg+: una con genotipo A (ADN VHB: $2,13 \times 10^6$ UI/ml) y otra con genotipo D (ADN VHB: $5,6 \times 10^7$ UI/ml). Se ensayaron las líneas celulares Huh7, Huh7.5 y HepG2. A 12 cultivos de cada una de las líneas celulares se añadió 100 ul de una dilución 1/10 directamente o en presencia de los agentes transfectantes lipofectamina o FuGene HD. La positividad del HBsAg en medio de cultivo se analizó cada 24 horas. Después de 7 días de seguimiento los cultivos positivos se enriquecieron por dilución límite del cultivo tras 1-5 ciclos de incubación en placas de ELISA con anti-HBs inmovilizado. La presencia de ADN VHB en las fracciones intracelular y medio de cultivo se analizó por nested-PCR de las regiones Pre-S2/S y S, y la forma episomal por una nested PCR específica del cccDNA.

Resultados: Se obtuvieron resultados mantenidos de positividad para el HBsAg únicamente en 1/12 (8%) de los cultivos de células Huh7 incubados con suero de genotipo D en presencia del agente transfectante FuGene HD, si bien con niveles muy bajos de detección (absorbancia/cut-off: 0,91). Ningún otro cultivo fue positivo independientemente del tipo celular o genotipo viral ensayados. Se observó un incremento moderado en los niveles de HBsAg tras los diferentes ciclos de enriquecimiento del cultivo positivo (absorbancia/cut-off: sin purificación: 0,91; ciclo 1: 1,01; ciclo 2: 1,05; ciclo 3: 1,25; ciclo 4: 1,55; ciclo 5: 2,02). Intracelularmente se obtuvo positividad para el ADN VHB de las regiones preS2/S y S ($5,02 \times 10^4$ UI/ml y $4,8 \times 10^4$ UI/ml, respectivamente) y para el cccDNA ($6,23 \times 10^3$ UI/ml). Por el contrario, en el medio de cultivo únicamente se detectó VHB de las regiones preS2/S y S ($2,02 \times 10^2$ y $2,3 \times 10^2$ UI/ml, respectivamente), con negatividad del cccDNA. Asimismo se observó un importante efecto citopático en las células infectadas y únicamente se constató una viabilidad del 23% de células con respecto a los cultivos control no infectados tras 7 días de cultivo.

Conclusiones: La combinación del uso de agentes transfectantes y posterior enriquecimiento ha permitido la obtención de células Huh7 infectadas con VHB que soportan la producción de cccDNA. Este modelo experimental puede ser de interés para el estudio in vitro de la evolución del cccDNA durante la terapia antiviral, aunque se requiere optimizar el rendimiento y nivel de enriquecimiento del proceso, además de minimizar el efecto citopático.

P-67. LA RESTAURACIÓN DE LA RESPUESTA CELULAR CITOTÓXICA ESPECÍFICA CONTRA EL VHC ES UN EXCELENTE PREDICTOR DE RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA TRAS TRATAMIENTO CON PEG-INTERFERÓN Y RIBAVIRINA

M.U. Lokhande, J.R. Larrubia, T. Parra-Cid, J. Miquel, S. García-Garzón, A. González-Praetorius y E. Sanz-de-Villalobos

Unidad de Hepatología Traslacional. Hospital Universitario de Guadalajara. España.

Introducción: La restauración de una respuesta celular citotóxica VHC-específica podría tener un papel importante en el desarrollo de respuesta virológica sostenida (RVS) tras tratamiento anti-VHC. Se analizó en linfocitos T citotóxicos (LTC) VHC-específicos su frecuencia, reactividad y fenotipo PD-1 a lo largo del tratamiento en relación con la respuesta virológica (RV).

Métodos: Se reclutaron 52 pacientes con hepatitis crónica HLA-A2+ (75% genotipo-1) tratados con PEG-interferón alfa-2b y ribavirina. Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) antes del tratamiento, en semana 12 y 24 y después del tratamiento. Directamente ex-vivo y tras estimulación antígeno específica, se cuantificó la frecuencia de LTC VHC-específicos, mediante tinción de las CMSP con anticuerpos anti-CD8 y complejos pentaméricos HLA-A2/péptido (pentámero), y se comparó en función de la RV. Se estudió el fenotipo PD-1 en las células pentámero+ directamente ex-vivo y tras expansión. Las CMSP marcadas se analizaron mediante citometría de flujo. Se utilizaron tests no-paramétricos y curvas ROC para el análisis estadístico.

Resultados: La frecuencia pre-tratamiento de casos con células CD8+/pentámero+ detectables directamente ex-vivo y tras estimulación específica fue similar entre respondedores sostenidos (RS) y pacientes sin respuesta sostenida (NR). Sin embargo, se observó una cinética diferente de las células CD8+/pentámero+ durante el tratamiento según la RV. En RS, la frecuencia de LTC VHC-específicos se incrementó durante el primer trimestre y tras-tratamiento ($p = 0,045$), mientras que esto no ocurrió en NR. De hecho, la detección de más de 0,04% células pentámero+ sobre el total de células CD8+ en la semana 12 o 24 de tratamiento mostró un valor predictivo positivo de RVS del 100%. Además, la capacidad proliferativa de las células pentámero+ era significativamente más alta en la semana 12 y 24 de tratamiento en los RS que en los NR ($p = 0,035$). Por otro lado, la expresión de PD-1 era similar basalmente, pero más alta tras tratamiento en NR que en RS ($p = 0,001$). La recuperación de una población periférica de células Pentámero+ en la semana 12 y 24 de tratamiento se correlacionó con un descenso de la CV superior a 3 logs en la semana 12 de tratamiento ($r = 0,389$; $p = 0,014$).

Conclusiones: Un descenso intenso de la carga viral al principio del tratamiento con PEG-interferón y ribavirina se correlaciona con la restauración de la respuesta celular citotóxica específica contra el VHC. La aparición de esta respuesta es un excelente predictor de RVS. La molécula PD-1 se encuentra sobre-expresada en los LTCs VHC-específicos en pacientes NR y este hecho podría estar en relación con el fallo al tratamiento.

P-68. EL TRATAMIENTO DURANTE 5 AÑOS CON TENOFОВIR DISOPROXIL FUMARATO (TDF) PARA LA HEPATITIS B CRÓNICA (HBC) ESTÁ ASOCIADO A SUPRESIÓN VIRAL MANTENIDA Y A UNA REGRESIÓN HISTOLÓGICA SIGNIFICATIVA DE FIBROSIS Y CIRROSIS

M. Buti^a, P. Marcellin^b, E.J. Gane^c, Z. Krastev^d, R. Flisiak^e, G. Germanidis^f, M.K. Washington^g, C.N. Barnes^h, J.F. Flaherty^h, J.D. Bornstein^h, J.G. Mchutchison^h y E.J. Heathcoteⁱ

^aHospital General Universitari Vall d'Hebron y CIBERehd. Barcelona. España.

^bHôpital Beaujon. APHP. Clichy. Francia.

^cMiddlemore Hospital. Auckland. Nueva Zelanda.

^dUniversity Hospital "St. Ivan Rilsky". Sofia. Bulgaria.

^eMedical University of Bialystok. Bialystok. Polonia.

^fUniversity Hospital of Thessaloniki. Thessaloniki. Grecia.

^gVanderbilt University. Nashville. TN. EE.UU.

^hGilead Sciences Inc. Foster City. CA. EE.UU.

ⁱUniversity of Toronto. Toronto. ON. Canadá.

Introducción: TDF ha demostrado eficacia y seguridad en pacientes con HBC a corto-medio plazo. El objetivo es analizar los resultados virológicos e histológicos con biopsias pareadas correspondientes al tratamiento con TDF durante 5 años de dos estudios a largo plazo realizados en pacientes HBeAg- (estudio 102) y HBeAg+ (estudio 103).

Métodos: Después de 48 semanas de comparación doble ciego de TDF con adefovir dipivoxil, todos los pacientes a los que se les realizó una biopsia hepática fueron candidatos para entrar en la fase abierta con TDF. Los sujetos fueron evaluados cada 3 meses para determinar la seguridad, eficacia virológica y controlar la aparición de resistencias. Al cabo de 5 años se repitieron las biopsias hepáticas y se revisaron de forma centralizada y ciega por un patólogo independiente.

Resultados: De los 641 pacientes inicialmente aleatorizados y tratados, 585 (91%) entraron en fase abierta con TDF. A los 5 años, 489 (76%) seguían en el estudio. Se disponía del estudio histológico hepático basal y del 5º año de 348 (54%) pacientes. La proporción de pacientes con ADN del VHB < 400 copias/ml (Análisis por intención de tratar) y la normalización de ALT (datos observados, ausencia = exclusión [A = E]) en el 5º año fue 83% y 85% y 65% y 73% para los pacientes HBeAg- y HBeAg+, respectivamente. La mayoría de los pacientes (87%) mostró una mejoría histológica global (A = E); además, el 74% de los pacientes cirróticos en la basal tuvieron regresión de la cirrosis histológica a los 5 años. En el 10% de los pacientes HBeAg+ y en 1 HBeAg- se observó pérdida de HBsAg (análisis Kaplan Meier) en la semana 240. TDF fue bien tolerado; no se detectó resistencia a TDF en ningún paciente a lo largo de los 5 años.

Conclusiones: En estos dos ensayos, TDF continúa siendo seguro y eficaz tras un periodo de tratamiento de 5 años. Estos datos muestran la relación entre la supresión mantenida de la replicación del VHB con TDF y la regresión de la fibrosis avanzada en la mayoría de los pacientes tratados.

P-69. DOSIS ALTAS FRENTE A DOSIS ESTÁNDAR DE RIBAVIRINA (RBV) Y PEGINTERFERÓN ALFA-2A EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VHC, GENOTIPO 3 Y CARGA VIRAL ELEVADA. RESULTADOS FINALES DEL ESTUDIO DARGEN-3 (DOSIS ALTAS DE RIBAVIRINA EN GENOTIPO 3 Y CARGA VIRAL ALTA)

C. Fernández^a, H. Masnou^b, R. Morillas^b, J.M. Navarro^c, R. Bárcena^d, J.M. González^e, L. Martín^f, A. Poyato^g, M. Miquel^h, F. Jorqueraⁱ, T. Casanovas^j, M. Romero^k, J. Salmerón^l, J.I. Calleja^m, R. Solàⁿ y R. Planas^b

^aHospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid. España.

^bCIBERhd. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

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

^dCIBERhd. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

^eHospital Clínico Universitario de Valladolid. España.

^fHospital de Donostia. Guipúzcoa. España.

^gCIBERhd. Hospital Reina Sofía. Córdoba. España.

^hHospital Parc Taulí. Sabadell. Barcelona. España.

ⁱComplejo Hospitalario de León. España.

^jHospital de Bellvitge. L'Hospitalet. Barcelona. España.

^kCIBERhd. Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

^lCIBERhd. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

^mHospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid. España.

ⁿHospital del Mar. Barcelona. España.

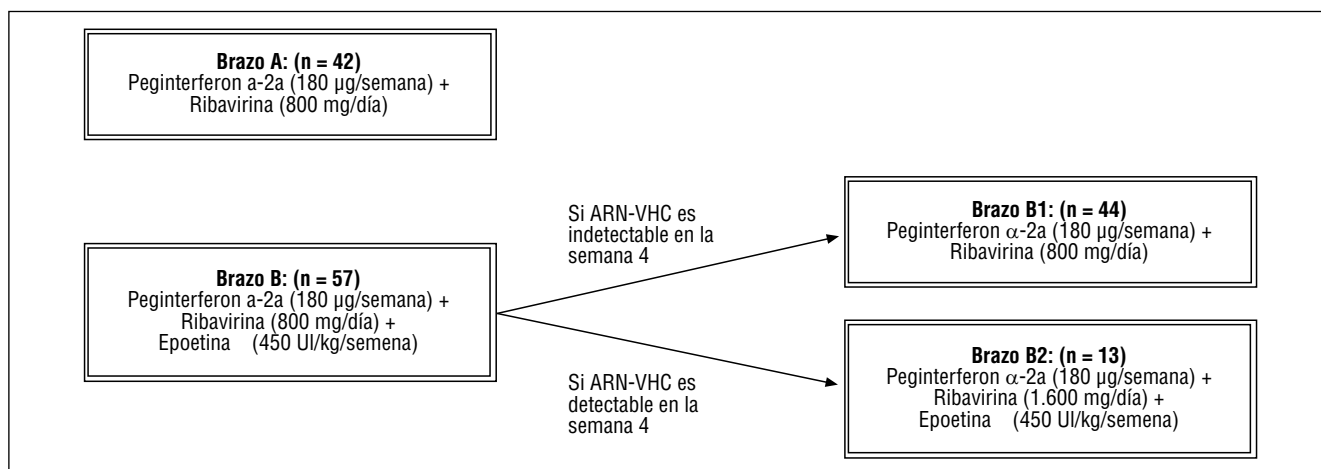
Introducción: Los pacientes con hepatitis crónica C (HCC), genotipo 3 (G3) y carga viral (CV) elevada, presentan tasas de respuesta virológica sostenida (RVS) relativamente bajas, y es inferior al 50% en ausencia de RVR. La prolongación del tratamiento no incrementa la tasa de RVS pero se desconoce si la administración de dosis altas de RBV mejora la RVS en este subgrupo.

Objetivos: Evaluar la eficacia y seguridad de peginterferón alfa-2a 180 mg/semana y dosis estándar de RBV (800 mg/día) durante 24 semanas (brazo A), frente a dosis altas de RBV (1.600 mg/día) con epoetina β (450 UI/Kg/semana) (brazo B) sobre la RVS en pacientes con G3 y CV basal superior a 600 KUI/ml.

Métodos: Estudio multicéntrico, de fase IV. Los pacientes se aleatorizaban a los brazos A o B. Si los pacientes del brazo B presentaban RVR, continuaban con 20 semanas más 800 mg/día de RBV (B1) y en ausencia de RVR, continuaban 20 semanas más con dosis de 1.600 mg/día de RBV y epoetina β (450 UI/Kg/semana) (B2).

Resultados: 99 pacientes evaluables procedentes de 21 hospitales, asignados 42 al brazo A y 57 al brazo B. Todos los pacientes de ambos brazos, presentaban similares características demográficas basales. La tasa de RVR por protocolo (PP) en el brazo A fue del 65,9% frente al 78,6% en el brazo B (NS). La respuesta virológica al final del tratamiento PP fue del 100% (A), del 95% (B1) y 100% (B2) (NS). Siete pacientes interrumpieron precozmente el tratamiento (3, 3 y 1) (NS). La tasa de RVS global PP fue del 77,1% (A), 67,5% (B1) y 66,7% (B2) (NS). La RVS por ITT fue del 65,9% (A), 61,4% (B1) y 66,7% (B2) (NS).

Conclusiones: La intensificación del tratamiento con RBV no mejora la tasa de RVS en pacientes con G3 y CV basal alta. Este régimen es seguro y bien tolerado. Los pacientes con G3 y CV basal elevada tratados con peginterferón alfa-2a y RBV alcanzaron altas tasas de RVR y RVS en ambos brazos de tratamiento.



P-70. EXPRESIÓN SOSTENIDA DE ANGIOPOYETINA 2 DURANTE LA DIFERENCIACIÓN DE MONOCITOS A MACRÓFAGOS Y CÉLULAS DENDRÍTICAS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

Y. Rodríguez-Muñoz^{a,b}, S. Martín-Vílchez^{a,b}, M.J. Borque^c, R. López-Rodríguez^{a,b}, A. Hernández-Bartolomé^{a,b}, L. García-Buey^{a,b}, M. Trapero-Marugán^b, R. Moreno-Otero^{a,b} y P. Sanz-Cameno^{a,b}

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

^bServicio de Gastroenterología y Hepatología; ^cUnidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. España.

Introducción: La hepatitis crónica C (HCC) es una enfermedad hepática de origen vírico que cursa con fenómenos angiogénicos e inflamatorios intrahepáticos patológicos. Los TEMs (monocitos que expresan el receptor Tie-2) constituyen un nuevo subtipo de monocitos caracterizados por poseer un marcado potencial pro-angiogénico y por su incapacidad para mediar la presentación antigénica. Se ha descrito que los TEMs están involucrados en la remodelación vascular patológica tumoral y de enfermedades inflamatorias crónicas. Debido a que la funcionalidad de los monocitos, macrófagos y células dendríticas se ve comprometida durante la progresión de la HCC, y a que hemos observado un desequilibrio del sistema de angiopoyetinas/Tie-2 en los monocitos de sangre periférica de pacientes con HCC, nos planteamos estudiar este sistema durante su diferenciación y maduración.

Objetivos: Analizar el patrón de expresión del sistema de angiopoyetina/Tie-2 durante la diferenciación y maduración de monocitos aislados de sangre periférica de pacientes con HCC y sujetos control, con el fin de evaluar el papel de la infección crónica por virus C en la fisiología de los TEMs.

Métodos: Las células mononucleares de sangre periférica de 8 pacientes con HCC y 9 donantes sanos fueron aisladas mediante un gradiente de centrifugación con Ficoll. Los monocitos fueron separados mediante selección positiva con un anticuerpo anti-CD14 y bolas magnéticas (Miltenyi Biotec) según las instrucciones del fabricante. Las células obtenidas se cultivaron a una densidad de 1×10^6 en medio RPMI-1640 completo. La diferenciación de monocitos a macrófagos y células dendríticas (MDM y CDDM) fue inducida al suplementar el cultivo de células CD14 positivas con el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) o GM-CSF e IL-4, respectivamente. Para la obtención de CDDM maduras, las CDDM inmaduras fueron incubadas 24 horas con lipopolisacárido (LPS). La expresión del receptor Tie-2 fue analizada mediante citometría de flujo, mientras que los niveles de angiopoyetina 1 y 2 (Ang1 y Ang2) se determinaron en los sobrenadantes mediante ELISA.

Resultados: Durante el proceso de diferenciación de monocito a macrófago o dendrítica, la expresión del receptor Tie-2 disminuyó drásticamente tanto en los individuos controles como en los pacientes con HCC. En cambio, los niveles de expresión de Tie-2 aumentaron ligeramente tras la maduración de las CDDM controles frente a las de pacientes con HCC. De forma interesante, se apreció una expresión diferencial de las angiopoyetinas entre pacientes y controles: mientras que los niveles de Ang2 experimentaron un descenso muy acusado durante la diferenciación de los monocitos a MDM y CDDM de sujetos control, el descenso de la expresión de Ang2 en las células derivadas de pacientes con HCC fue mucho más discreto. En cambio, los niveles de Ang2 permanecieron estables en la maduración. Por otra parte, la expresión de Ang1 fue inferior en todos los tipos celulares de pacientes, siendo significativamente menores en monocitos y CDDMs maduras.

Conclusiones: La expresión mantenida de Ang2 durante la diferenciación de los monocitos a MDM y CDDM de los pacientes con HCC puede tener importantes consecuencias patogénicas en el transcurso y progresión de esta enfermedad inflamatoria crónica del hígado a cirrosis y hepatocarcinoma. El estudio de su repercu-

sión en la funcionalidad de estas células puede ser de gran ayuda para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

P-71. FACTORES IMPLICADOS EN LA AUSENCIA DE RESPUESTA EN PACIENTES CON GENOTIPO FAVORABLE CC DE LA IL28B EN HEPATITIS C

M. Maraver^a, L. Rojas^a, R. Solá^b, X. Forns^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. España.

^dHospital de la Princesa. Madrid. España.

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

^fHospita 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.

Introducción: Los pacientes con genotipo CC de la IL28B presentan una alta sensibilidad al interferón y una excelente tasa de respuesta a la terapia combinada (entre 66% y 91%).

Objetivos: Conocer los factores que influyen en la falta de respuesta viral sostenida en pacientes con genotipo favorable CC del gen de la IL28B.

Métodos: Incluimos 453 pacientes con hepatitis C genotipo CC de la IL28B tratados con peginterferón y ribavirina: genotipo 1&4 (n = 324), genotipo 2&3 (n = 129) F0-F1: 153 (46%), F2: 104 (32%) y F3-F4: 73 (22%). Alcanzaron RVS 328/453 (72%). Se analizó el polimorfismo rs12979860 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: Alcanzaron respuesta viral sostenida 201/297 (68%) pacientes con genotipo 1 y 90/112 (80%); p = 0,003. Los pacientes con genotipo CC de la IL28B y fracaso terapéutico (n = 125) presentaban niveles elevados de GGT: 69 + 77 vs 55 + 68 U/L, p < 0,039; glucemia: 99 + 23 vs 93 + 17 mg/dl; p < 0,002; y fibrosis: 2,4 + 1 vs 1,9 + 1; p < 0,0001. La tasa de respuesta fue del 82% (125/153) en F0-F1, 76% (77/102) en F2 y 64% (47/73) en F3-F4; p < 0,001. En el análisis multivariado (regresión logística), los factores independientes predictivos de respuesta fueron la fibrosis HR: 1,5 (1,13-1,91), p < 0,002 y la glucemia HR: 1,02 (1,002-1,034); p = 0,02, mientras que los factores virales (genotipo y carga viral) quedaron excluidos del modelo. Presentaban genotipo CC 112/201 pacientes con hepatitis C genotipo 3 (56%) frente a 297/994 pacientes con genotipo 1 (29%); p < 0,0001.

Conclusiones: Los factores metabólicos y la fibrosis afectan la tasa de curación en pacientes con genotipo CC. La corrección de los trastornos metabólicos y el diagnóstico y tratamiento precoz podrían mejorar las tasas de curación en estos pacientes con genotipo IL28B favorable. El resultado de la infección (cronicidad o aclaramiento espontáneo) parece depender de la interacción de la genética del virus (genotipo viral) con la del huésped (genotipo IL28B).

P-72. ANÁLISIS DE COSTE-UTILIDAD DE UN PROGRAMA DE ATENCIÓN MULTIDISCIPLINAR (PAM) PARA EL SOPORTE DE LA ADHERENCIA AL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C (HCC)

M. García-Retortillo^a, I. Cirera^a, M.D. Giménez^a, C. Márquez^a, N. Cañete^a, J.A. Carrión^a, P. Castellví^a, D. Lázaro^a, R. Navinés^{b,c}, J.R. Castaño^d, O. Urbina^e, E. Salas^e, F. Bory^a, R. Martín-Santos^{b,c}, C. Rubio-Terrés^f, V. Martín-Escudero^g y R. Solà^a

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

^bDepartamentos de Psiquiatría y Psicología. Instituto de Neurociencias. IDIBAPS. Hospital Clínic. Universitat de Barcelona. España.

^cPrograma de Neuropsicofarmacología; ^dDepartamento de Psiquiatría. IMIM. Hospital del Mar. Barcelona. España.

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

^fHealth Value. Madrid. España.

^gRoche Farma. Madrid. España.

Introducción: La adherencia durante el tratamiento antiviral de la hepatitis crónica C (HCC) es un factor fundamental para conseguir la respuesta virológica sostenida (RVS).

Objetivos: Realizar un análisis de coste-utilidad de un programa de atención multidisciplinar (PAM) para el soporte de la adherencia al tratamiento de la HCC, en comparación con la estrategia de manejo convencional de los pacientes.

Métodos: Se incluyeron 278 pacientes naïve, mono infectados por la hepatitis C (131 en el grupo PAM o Grupo 1 y 147 en el grupo de control convencional o Grupo 2). Todos los pacientes recibieron tratamiento con interferón pegilado alfa-2a (Pegasys®) más ribavirina. El equipo del PAM incluye no sólo hepatólogos y enfermería sino también farmacéuticos, psicólogos, psiquiatras y administrativos. El Grupo 2 sólo incluye hepatólogos y enfermería. En el PAM se llevó a cabo una evaluación continua del riesgo psiquiátrico además de un control activo de la medicación. Se evaluaron la adherencia, la tasa de RVS y los recursos sanitarios utilizados en cada una de las dos estrategias. El análisis se llevó a cabo mediante un modelo de Markov con un horizonte temporal de por vida, con siete estados de salud y desde la perspectiva del Sistema Nacional de Salud. Las probabilidades de transición entre los estados de salud y las utilidades se obtuvieron a partir de la bibliografía publicada. Los costes unitarios (€-2010) de los recursos sanitarios considerados (fármacos, complicaciones de la enfermedad a largo plazo y tiempo dedicado por los profesionales sanitarios) se obtuvieron de fuentes españolas. Se aplicó una tasa de descuento del 3,5% a costes y beneficios.

Resultados: Los pacientes incluidos en el grupo PAM presentaron un mayor grado de cumplimiento que los tratados dentro del Grupo 2 (94,6% vs 78,9%, $p = 0,0001$). La RVS fue también superior en el grupo PAM para todos los genotipos (77,1% vs 61,9%, $p = 0,006$), G1/4 (67,7% vs 48,9%, $p = 0,02$) y G2/3 (87,7% vs 81,4%, ns). Considerando todos los genotipos, el coste por paciente fue de 13.319 € en el grupo PAM y de 16.184 € en el grupo control. Por otra parte, en el grupo PAM se obtuvieron más años de vida ajustados por calidad (AVAC) que en el control (16,317 y 15,814 AVAC por paciente, respectivamente). En consecuencia, el PAM fue dominante (más efectivo y con menores costes) en comparación con la estrategia convencional. En concreto, el PAM fue dominante en los genotipos 1/4 con un ahorro de 2.476 € y una ganancia de 0,622 AVAC por paciente mientras que en los genotipos 2/3, el ahorro supuso 1.417 € y una ganancia de 0,208 AVAC por paciente. Estos resultados fueron estables para el IC95% de las dosis de los tratamientos farmacológicos.

Conclusiones: El tratamiento de la HCC con PegIFN alfa-2a y ribavirina en el marco de un PAM mejora el cumplimiento y es una estrategia coste-efectiva en comparación con el manejo convencional de los pacientes.

P-73. CD127 REGULA LA REACTIVIDAD DE LAS CÉLULAS T CITOTÓXICAS VHC-ESPECÍFICAS A TRAVÉS DE LA MODULACIÓN DE LA VÍA DE LA APOPTOSIS MCL-1/BIM

M.U. Lokhande, J.R. Larrubia, T. Parra-Cid, J. Miquel, S. García-Garzón, A. González-Praetorius y E. Sanz de Villalobos

Unidad de Hepatología Traslacional. Hospital Universitario de Guadalajara. España.

Introducción: En la infección persistente por el virus de la hepatitis C (VHC), la reactividad de los linfocitos T citotóxicos (LTC) se encuentra alterada y esto afecta al control del VHC. La expresión de IL-7R (CD127) en estas células podría regular su reactividad a través de la modulación del equilibrio entre Mcl-1/Bim. Bim es una molécula pro-apoptótica bloqueada por la proteína anti-apoptótica Mcl-1. Se analizó la expresión de Mcl-1/Bim y la reactividad celular en los LTC VHC-específicos en función del fenotipo CD127.

Métodos: Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de 17 pacientes HLA-A2+ VHC+ con LTC VHC-específicos detectables directamente ex-vivo. Se visualizaron los LTC VHC-específicos mediante tinción de las CMSP con anti-CD8 mAb y complejos pentaméricos HLA-A2/péptido (pentámero). Se analizó el fenotipo Bim/Mcl-1/CD127 en los LTC VHC-específicos mediante marcaje de las células detectables CD8+/Pentámero+ con anti-Bim/Mcl-1/CD127 mAb directamente ex-vivo. Se evaluó la capacidad proliferativa de los LTC VHC-específicos tras estimulación antígeno-específica en presencia y ausencia del inhibidor de caspasas z-VAD-fmk. Todas las células marcadas se analizaron mediante citometría de flujo. Se utilizaron test no-paramétricos para el análisis estadístico.

Resultados: Los LTC VHC-específicos con fenotipo CD127bajo se asociaban a elevada carga viral e hipertransaminasemia, mientras que las células CD127alto se correlacionaban con carga viral indetectable y transaminasas normales ($p = 0,002$ y $p = 0,02$). Directamente ex-vivo, la frecuencia de células pentámero+ era similar independientemente del nivel de expresión de CD127. La proliferación de las células pentámero+ CD127bajo, tras estimulación específica in-vitro, se encontraba alterada con respecto a las células CD127alto ($p = 0,036$), pero esto se corregía mediante tratamiento con z-VAD-fmk. Se observó una reducción significativa de la expresión de CD127/Mcl-1 y sobre-expresión de Bim en las células pentámero+ tras estimulación antígeno-específica. La variación de la expresión de Mcl-1 y Bim, en las células pentámero+ con respecto a las células CD8+ totales, se correlacionó de forma positiva ($r = 0,529$; $p = 0,043$) y negativa ($r = -0,450$; $p = 0,036$) con el fenotipo CD127 en las células Pentámero+, respectivamente. El cociente de la expresión de Mcl-1/Bim era más alto en las células pentámero+ CD127alto (ratio: 1,3; IQR: 0,3) que en las células CD127bajo (ratio: 0,9; IQR: 0,3) ($p = 0,029$), y esto se tradujo en una correlación positiva entre la expresión de CD127 y el cociente Mcl-1/Bim ($r = 0,578$; $p = 0,03$).

Conclusiones: El fenotipo CD127 regula la expresión de Bim y Mcl-1 en los LTC VHC-específicos. Un cociente bajo de la expresión Mcl-1/Bim está involucrado en la hiporeactividad de los LTC VHC-específicos CD127bajo durante la infección crónica por VHC, pero puede ser corregido mediante inhibición de la apoptosis mediada por las caspasas.

P-74. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C MODULA IN VIVO E IN VITRO LA EXPRESIÓN DE GENES Y PROTEÍNAS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA

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

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

Introducción: La hepatitis C crónica produce esteatosis y resistencia a la insulina. Los mecanismos moleculares por el cual el virus lleva a cabo la resistencia a la insulina no se conocen. Por tanto, el objetivo de este trabajo es realizar un estudio comparativo entre la expresión de los genes y proteínas de la vía de señalización de la insulina, en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de pacientes infectados con HCV genotipo 1 y un sistema in vitro de infección con el replicón vírico JFH1 (genotipo 2a), en la línea celular Huh 7.5.1 de hepatoblastoma humano.

Métodos: Se aislaron las células PBMC de pacientes infectados con HCV genotipo 1, agrupándose en dos grupos: No respondedores (NR) y Respondedores completos (RC) al tratamiento con interferón + ribavirina. Se aisló el RNA total y se realizó una retotranscripción y posteriormente analizó la expresión mediante PCR semicuantitativa en tiempo real. Se cultivaron células de la línea Huh7.5.1 y se infectaron con el replicón vírico JFH1 (1 partícula/célula). Asimismo se añadió insulina (10 nM) a las células. La extracción del RNA se realizó 48h después del cambio del medio de cultivo. Se cuantificó la expresión de los diferentes genes con el Kit de qRT-PCR Quantace (Bioline, Londres, RU) y se analizó la cantidad de proteínas específicas mediante Western-Blot.

Resultados: La expresión de los genes de la vía de señalización de la insulina en pacientes de genotipo 1 varía según si los pacientes han respondido al tratamiento o no. mTOR aumenta su expresión cuando los pacientes están todavía infectados (NR: 1,8; RC: 1,54 inhibición) con respecto a aquellos que han respondido a la terapia. PTP aumenta su expresión en no respondedores (NR: 4,3 ± 1,3 inducción- RC: 2,2 ± 0,6). En cambio, PTEN 1 está inhibido en no respondedores (1,5 ± 0,4) con respecto a Respondedores (3,0 ± 0,7), de forma similar se observa que TPT está muy expresado en Respondedores (RC: 2,9 ± 1,2 - NR: 1,3 ± 0,2). Los genes IRS1, PTEN4 y AKT no varían de forma significativa entre respondedores y no respondedores. La expresión de los genes IRS1, AKT, PTP, PTEN1, PTEN4, PI3K, MTOR y MAP3K de la vía de señalización de la insulina, no varían significativamente cuando las células están infectadas con el replicón JFH1 de genotipo 2, aunque los cambios se observan a nivel de proteínas. La cantidad de proteína IRS1 disminuye cuando las células están infectadas por el virus y tienen insulina en el medio. Además se observa que dos fosforilaciones inhibitorias de IRS1 (S612 y S307) están también disminuidas en virus + insulina. La proteína MTOR está aumentada en presencia del virus. PTEN está disminuido en presencia del virus y más aún cuando hay insulina en el medio.

Conclusiones: El virus de la hepatitis C, dependiendo del genotipo, modifica los niveles de proteína de la vía de señalización de la insulina. Estas variaciones permiten plantear una alternativa te-

rapéutica contra la hepatitis C empleando dichas proteínas como dianas.

P-75. DIFERENTES POSIBILIDADES DE ALCANZAR RVS CON UN TRATAMIENTO BASADO EN TELAPREVIR EN PACIENTES RESPONDEDORES NULOS, RESPONDEDORES PARCIALES Y RECAEDORES INDEPENDIENTE DE RESPUESTAS SIMILARES TRAS UNA FASE DE INICIO DIFERIDO (LEAD-IN) DE 4 SEMANAS CON PEGINTERFERÓN/RIBAVIRINA: SUBANÁLISIS DEL ESTUDIO REALIZE

M. Diago^a, S. Zeuzem^b, G.R. Foster^c, P. Andreone^d, S. Pol^e, E. Lawitz^f, S.K. Roberts^g, P. Pockros^h, Z.M. Younossiⁱ, I. Lonjon-Domanec^j, R. Van Heeswijk^k, S. de Meyer^k, R. Polo^l, D. Luo^l, S. George^m, J. Witek^l y G. Picchio^l

^aHospital General de Valencia. España.

^bJohann Wolfgang Goethe University Medical Center. Frankfurt am Main. Alemania.

^cQueen Mary University of London. Institute of Cell and Molecular Science. Londres. Reino Unido.

^dUniversità di Bologna. Bologna. Italia.

^eUniversité Paris Descartes. Francia.

^fAlamo Medical Research. San Antonio. EE.UU.

^gAlfred Hospital. Department of Gastroenterology. Melbourne. Australia.

^hScripps Research Institute. La Jolla. EE.UU.

ⁱInova Fairfax Hospital. Center for Liver Diseases and Department of Medicine. Falls Church. VA. EE.UU.

^jJanssen Pharmaceuticals. París. Francia.

^kTibotec BVBA. Beerse. Bélgica.

^lTibotec Inc.. Titusville. EE.UU.

^mVertex Pharmaceuticals Incorporated. Cambridge. EE.UU.

Introducción: El estudio REALIZE demostró que la caracterización de la respuesta previa ofrece una mejor predicción de la RVS con telaprevir (TVR) que la disminución del ARN-VHC después de 4 semanas de inicio diferido (lead-in) con PegIFN/RBV (PR). Se realizó un análisis utilizando intervalos más pequeños de respuesta ARN VHC en la sem 4, para determinar si refinar las categorías de respuesta: < o 1 log10 impacta en la RVS en pacientes recaedores, respondedores parciales y nulos con un tratamiento basado en TVR.

Métodos: Los pacientes VHC G1 fueron aleatorizados 2:2:1 a tratamiento con 12 sem de TVR (750 mg cada 8 horas) + PR ([T12/PR48] o 4 sem de inicio diferido (lead-in) de PR [ID (LI) T12/PR48]), o placebo/PR (Pbo12/PR48), para un total de 48 sem de tratamien-

	RVS en pacientes con 0-0,5 log ₁₀ en semana 4, % (n/N)	RVS en pacientes con 0,5-1,0 log ₁₀ en semana 4, % (n/N)	RVS en pacientes con 1,0-1,5 log ₁₀ en semana 4, % (n/N)	RVS en pacientes con 1,5-2,0 log ₁₀ en semana 4, % (n/N)	RVS en pacientes con > 2,0 log ₁₀ en semana 4, % (n/N)	Tasa de RVS en total en REALICE por categoría de respuesta previa, %
Brazo control (Pbo/PR) (n = 121)						
Recaedores (n = 61)	0 (0/3)	0 (0/3)	11 (1/9)	30 (3/10)	31 (11/36)	24
Respondedores parciales (n = 26)	0 (0/2)	0 (0/6)	13 (1/8)	20 (1/5)	40 (2/5)	15
Respondedores nulos (n = 34)	0 (0/8)	0 (0/15)	0 (0/8)	NA	67 (2/3)	5
Brazo de fase de inicio diferido (lead-in) T/PR (n = 240)						
Recaedores (n = 126)	67 (2/3)	60 (6/10)	92 (11/12)	89 (16/18)	95 (79/83)	88
Respondedores parciales (n = 45)	60 (3/5)	54 (7/13)	30 (3/10)	80 (8/10)	71 (5/7)	54
Respondedores nulos (n = 39)	6 (1/16)	20 (5/25)	44 (8/18)	60 (3/5)	80 (4/5)	33

to. La estratificación fue por carga viral (ARN VHC = vs < 800.000 UI/mL) y respuesta previa a PR (nula, parcial o recaedores).

Resultados: 121 y 239 pacientes tuvieron el valor de ARN-VHC disponible en la sem 4 en los brazos PR y LI T12/PR48, respectivamente. Los recaedores o respondedores parciales con respuesta muy pobre en la sem 4 de la fase de inicio diferido (lead-in) (0-0,5 log10) alcanzaron tasas de RVS sustancialmente mayores que los respondedores nulos con respuestas parecidas en este momento del tiempo. Los respondedores nulos presentaron el rango más amplio de tasa de RVS al tratamiento con TVR (6% a 80%).

Conclusiones: De los pacientes con pobre respuesta al tratamiento con PR (disminución < 1 log10 ARN VHC en sem 4), los respondedores nulos fueron diferentes a los respondedores parciales y recaedores en su capacidad para alcanzar una RVS en el tratamiento con TVR. Esto sugiere que el uso exclusivo de la estrategia de la fase de inicio diferido (lead-in) para predecir la RVS en el tratamiento con TVR en pacientes con tratamiento previo puede no predecir la verdadera posibilidad de alcanzar una RVS y resalta el valor de la categorización de respuesta previa para predecir la respuesta a TVR.

P-76. IMPACTO DE LA ANEMIA Y LA REDUCCIÓN DE LA DOSIS DE RIBAVIRINA EN LA RVS EN EL TRATAMIENTO CON TELAPREVIR EN PACIENTES CON VHC GENOTIPO 1 Y FRACASO AL TRATAMIENTO PREVIO CON PEGINTERFERÓN/RIBAVIRINA EN EL ESTUDIO REALIZE DE FASE III

M. Diago^a, S.K. Roberts^b, P. Andreone^c, S. Pol^d, Z.M. Younossi^e, E. Lawitz^f, R. Focaccia^g, G.R. Foster^h, A. Horbanⁱ, I. Lonjon-Domanec^j, R. Demasi^k, R. Van Heeswijk^l, G. Picchio^k, J. Witek^k y S. Zeuzem^m

^aHospital General de Valencia. España.

^bAlfred Hospital. Department of Gastroenterology. Melbourne. Australia.

^cUniversità di Bologna. Bologna. Italia.

^dUniversité Paris Descartes. Francia.

^eInova Fairfax Hospital. Center for Liver Diseases and Department of Medicine. Falls Church. VA. EE.UU.

^fAlamo Medical Research. San Antonio. EE.UU.

^gEmilio Ribas Infectious Diseases Institute. São Paulo. Brasil.

^hQueen Mary University of London. Institute of Cell and Molecular Science. Londres. Reino Unido.

ⁱMedical University of Warsaw. Warsaw. Polonia.

^jJanssen Pharmaceuticals. París. Francia.

^kTibotec Inc.. Titusville. EE.UU.

^lTibotec BVBA. Beerse. Bélgica.

^mJohann Wolfgang Goethe University Medical Center. Frankfurt am Main. Alemania.

Introducción: Este análisis valoró el impacto de la anemia en la RVS tras el tratamiento con TVR + PR, o PR, en pacientes con G1 VHC y con fracaso al tratamiento previo con PR en el estudio REALIZE de fase III.

Métodos: Los pacientes fueron aleatorizados 2:1:1 y estratificados por su carga viral (< 800.000 o = 800.000 UI/mL) y respuesta previa a PR (nulos, parciales, recaedores). El tratamiento fue 12 sem de TVR (750 mg cada 8 horas) + PR (con o sin 4 sem de inicio diferido (lead-in) con PR), o PR (PR48), durante 48 sem totales. El uso de la eritropoyetina no estaba permitido. Se evaluó el impacto de los factores basales de anemia (Hb < 10 g/dL); de la anemia como un factor predictivo de RVS; y la asociación entre la disminución de la dosis de R y la RVS.

Resultados: La población del estudio (n = 662) fue caracterizada de la siguiente manera: 28%, 19% y 53% eran respondedores nulos, respondedores parciales o recaedores, respectivamente; 69% hombres; edad media 51 años; 5% negros; 26% cirrosis; IMC medio 27 kg/m²; Hb basal media 15,4 g/dL. 219/530 (41%) y 29/132 (22%) tenían Hb < 10 g/dL en los grupos de TVR y PR48, respectivamente. Los factores asociados de manera significativa con el desarrollo de anemia en el tratamiento con TVR fueron la edad avanzada, el menor IMC, la menor Hb basal, la fibrosis más avanzada y el G1b vs G1a. Con PR48, la edad avanzada y la menor Hb basal fueron asociados con anemia. La anemia fue un predictor significativo de RVS con PR48 pero no con TVR. La dosis de R se redujo por un acontecimiento adverso en 133/532 (25%) de los pacientes en TVR y 16/132 (12%) de los pacientes en PR48. La tasa de RVS según la reducción de la dosis de RBV se resume en la tabla.

Conclusiones: En este análisis de pacientes con G1 VHC y fracaso al tratamiento previo con PR, la anemia y la reducción en la dosis de ribavirina no tuvieron un impacto significativo en la tasa de RVS en la terapia triple con TVR más PR.

P-77. EL ANÁLISIS DEL PROMOTOR BÁSICO DEL PRECORE Y DE LA REGIÓN DEL CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B POR SECUENCIACIÓN MASIVA MUESTRA LA MAYOR VARIABILIDAD EN LAS CAJAS TATA Y EN LOS PRINCIPALES EPÍTOPOS

M. Homs^{a,b}, M. Buti^{a,c}, D. Tabernero^{a,b}, R. Jardí^{a,b}, J. Quer^{a,c}, S. Camós^b, I. Ortega^d, A. Sánchez^d, R. Esteban^{a,c} y F. Rodríguez-Frías^{a,b}

^aCIBERehd.

^bDepartament de Bioquímica; ^cDepartament d'Hepatologia;

^dInstitut de Recerca. Unitat d'Estadística i Bioinformàtica. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Introducción: El promotor básico del preCore (BCP) y el preCore (pC) del VHB están relacionados con la expresión del HBeAg; mientras que el gen del Core contiene motivos epitópicos.

Objetivos: Analizar el BCP, pC y Core del VHB por pirosecuenciación masiva (UDPS).

Métodos: El análisis por UDPS se realizó en 12 muestras de 4 pacientes (1 al 4, tabla). Se procesaron 3 muestras/paciente: una basal, una a los 12 meses sin tratamiento y otra a los 12 meses de tratamiento con lamivudina. Se consideraron dos periodos: no tra-

	Recaedores n/n(%)	Respondedores parciales, n/N (%)	Respondedores nulos, n/N (%)
Grupos de TVR seleccionados (n = 530)			
Reducción dosis RBV	76/83 (92)	16/22 (73)	11/28 (39)
Sin reducción dosis RBV	169/203 (83)	39/75 (52)	35/119 (29)
PR48 (n = 132)			
Reducción dosis RBV	3/9 (33)	1/5 (20)	0/2 (0)
Sin reducción dosis RBV	13/59 (22)	3/22 (14)	2/35 (6)

tamiento (U) y tratamiento (T). Los fragmentos de PCR (494-bp) incluyeron el BCP, pC y los codones 1 al 84 del gen del Core. El análisis bioinformático incluyó un filtro de Poisson y un análisis de ligamiento. Para cada periodo, se establecieron las posiciones más variables a través de la desviación estándar de las frecuencias observadas.

Resultados: Se obtuvieron 543.089 secuencias y las proporciones > 0,05% fueron validadas. Los 10 cambios más frecuentes y la diferencia entre proporciones por periodos se presentan en la tabla. Los cambios más frecuentes en el BCP se detectaron en 13 de los 56 nucleótidos, 11 de ellos localizados en las cajas TATA. Los cambios en el pC solo se detectaron en los codones 28 y 29 del paciente 3. La variabilidad del Core se detectó en 15 de los 84 codones, 10 de ellos localizados en regiones epitópicas y en los codones 71 y 72. Se detectó una mayor variabilidad en el epitopo 50-69 después de T. El análisis de ligamiento del paciente 3 indicó que las variantes presentes en la Tabla 1 eran del mismo genoma viral.

Conclusiones: La variabilidad nucleotídica del BCP se localizó en las cajas TATA. La variabilidad del pC y el BCP fue debida a la expresión del HBeAg durante T, sugiriendo que el tratamiento antiviral puede ser más efectivo en las variantes HBeAg negativas. La mayor concentración de cambios en las regiones epitópicas parece confirmar su papel en la respuesta inmune durante la hepatitis crónica B (ver tabla pag. siguiente).

P-78. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C MODULA LA EXPRESIÓN GÉNICA DE RLDL EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA

A. Rojas^{a,b}, M. García-Valdecasas^{a,b}, I. Ranchal^{a,b}, M. Romero-Gómez^{a,b} y J.A. del Campo^{a,b}

^aCIBERehd.

^bUnidad de Gestión Médico Quirúrgica de Enfermedades Digestivas. Hospital de Valme. Sevilla. España.

Introducción y objetivos: El virus de la hepatitis C (VHC) interactúa con partículas de lípidos (como el receptor de LDL) para su entrada en la célula, circula como lipo-viropartículas y se secreta como VLDL. Por otro lado, los niveles de LDL son un factor predictivo de respuesta a telaprevir + peginterferón + ribavirina. El receptor LDL (LDLr) es una glicoproteína de membrana que controla la entrada de colesterol en las células. La transfección por JFH-1 en células Huh7.5 modula la expresión génica de LDLr. El objetivo del presente estudio fue investigar la interacción entre la infección por virus C genotipo 1 y la expresión génica de LDLr in vivo.

Métodos: Se han obtenido muestras de sangre y se han aislado células PBMC (células mononucleares de sangre periférica) de pacientes con hepatitis C genotipo 1 (n = 17). Incluimos pacientes con ARNVHC- tras tratamiento con peginterferón + ribavirina (P+R) (RVS, n = 8) y pacientes con ARNVHC+ (no respondedores, n = 9). Analizamos los niveles de expresión de los genes DGAT1 (diacilglicerol-acil-transferasa 1), DGAT2 y rLDL a partir de RNA total extraído de células PBMC. La expresión génica se ha analizado mediante PCR semi-cuantitativa en tiempo real utilizando el kit de qRT-PCR Quantace (Bioline, Londres, RU), empleando el gen de la GAPDH (gliceraldehído 3-fostato deshidrogenasa) como control.

Resultados: Los genes DGAT1 y DGAT2 están inducidos en pacientes ARNVHC+ (1,5 ± 0,4 veces y 1,6 ± 0,3 veces respectivamente) en comparación con los niveles de expresión de los pacientes ARNVHC- (RVS). La expresión del gen rLDL mostró una marcada disminución (1,6 ± 0,4 veces) de la expresión génica en los pacientes ARNVHC+ respecto a los pacientes ARNVHC-. En pacientes ARNVHC- (RVS) encontramos sobreexpresión de los genes FASN (Fatty acid synthase) y SREBF1 (Sterol regulatory element-binding transcription factor 1) relacionados con el metabolismo de lípidos (1,4 ± 0,3 y 2,4 ± 0,5 veces, respectivamente).

Conclusiones: La infección por VHC modula los niveles de expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos in vivo, especialmente para rLDL. Este hecho, junto a la evidencia de que los niveles de LDL están relacionados con la respuesta al tratamiento, refuerza la hipótesis sobre el papel que desempeña el metabolismo de lípidos en la hepatitis C.

Pt	Gen	Periodo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	A	Cambio	V72C	V72W	T ₁₇₆₉ A	G ₁₇₇₀ A	A ₁₇₆₁ T	T ₁₇₅₈ A	V72G	W71V	T ₁₇₅₈ G	A ₁₇₆₀ T
		% U	5	1,16	1,11	1,11	1,02	0,96	0,70	0,67	0,66	0,34
		Cambio	V72C	T ₁₇₆₉ A	G ₁₇₇₀ A	A ₁₇₆₁ T	T ₁₇₅₈ A	V72W	C ₁₇₈₈ T	V72G	W71V	E64D
2	A	% T	-5	-1,94	-1,94	-1,86	-1,76	-1,16	0,76	-0,70	-0,64	0,53
		Cambio	P79S*	T66M	A58D	C ₁₇₆₆ G	T ₁₇₆₉ A	G ₁₁₇₀ A	G ₁₇₆₃ T	C ₁₇₆₉ A	A ₁₇₆₀ G	N74T*
		% U	3,50	2,38	2,28	1,31	1,24	1,24	1,24	1,24	1,23	-1,02
3	D	Cambio	V63G*	T66M*	P79S*	N74T*	A58D	T67S	T ₁₇₆₉ A	G ₁₇₇₀ A	A ₁₇₆₄ G	C ₁₇₆₆ G
		% T	96,67	92,51	-33,32	-27,78	-3,46	-2,22	-2,12	-2,12	-2,10	-2
		Cambio	E64D*	T67N*	E14Q*	I59T*	poW28Stop*	A58V*	Q57H*	S35A*	poG29D*	V74I
4	D	% U	57,58	56,70	56,63	56,61	56,54	56,43	56,37	56,36	-55,60	-5,74
		Cambio	G ₁₈₀₉ A*	A ₁₇₆₇ G*	A ₁₇₆₄ G*	E64D*	Q14E*	S35A*	poW28Stop*	Q57H*	T67N*	A58V*
		% T	63,89	34,54	34,52	-30,57	29,93	-29,78	-29,73	-29,72	-29,69	-29,66
4	D	Cambio	W62V	A ₁₇₅₇ T	E64N	L65V	S21T	C ₁₇₆₆ A	T ₁₇₆₇ C	T ₁₇₆₇ A	C ₁₇₆₆ G	W62L
		% U	0,78	0,39	0,36	0,35	0,24	0,23	0,23	0,19	0,14	0,13
		Cambio	W62V	E64K	C1766A	T1767C	P79Q	A1757T	G63V	L65V	E64N	V72L
4	D	% T	-0,92	0,72	-0,68	-0,68	0,67	-0,61	0,53	-0,47	-0,46	-0,42

El genotipo (Gen) se indica en las columnas. Todos los pacientes eran Hbe positivos en el periodo de estudio, excepto el Pt.3, que perdió el HBeAg temporalmente. % U = % muestra sin tratamiento - % muestra basal. % T = % muestra lamivudina - % muestra sin tratamiento. *Cambios detectados por secuenciación convencional. Los cambios en el BCP están indicados con nucleótidos (en negrita). Los cambios en el preCore (pc, en cursiva) y el Core están presentados en codones.

P-79. RETRATAMIENTO DE PACIENTES CON HEPATITIS C Y FALLO A UN TRATAMIENTO PREVIO CON PEGIFN Y RBV (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, por 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.

^eCIBERehd. Hospital Germans Trias i Pujol. 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.

^jCIBERehd. Hospital Carlos III. Madrid. España.

^kCIBERehd. Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

^lHospital Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid. España.

Introducción: El conocimiento de los motivos del fallo a un tratamiento de la hepatitis C (HC-VHC) permite plantear medidas para corregirlos en un nuevo tratamiento.

Objetivos: Evaluar la eficacia del re-tratamiento con Peg-IFN alfa-2a y RBV con medidas obtenidas del análisis del tratamiento anterior en pacientes con HC-VHC y fallo previo a un régimen con PegIFN y RBV.

Métodos: Estudio prospectivo, multicéntrico que incluyó 1177 pacientes con HC-VHC sin respuesta sostenida tras un tratamiento previo. Tras el análisis de los motivos del fallo del tratamiento con los criterios ÁGORA (Gastroenterol Hepatol. 2011;34:168) se decidió el re-tratamiento en 549 (57,9%) pacientes en relación con el motivo del fallo del primer tratamiento. En este estudio se incluyen pacientes tratados previamente con PegIFN y RBV que completaron 12 semanas de re-tratamiento con PegIFN alfa-2a y RBV a las dosis habituales. Se analizaron las tasas de RVR (ARN VHC negativo en semana 4), RVPc (ARN VHC negativo en semana 12) y RVP (disminución de 2 log ARN VHC en semana 12).

Resultados: Se incluyeron 432 pacientes (edad 49 años; ARN VHC $< 800 \times 10^3$ UI/mL 65,3%; fibrosis 3/4 33%). El genotipo del VHC fue G-1: 78,5%, G2/3: 15,2% y G-4: 6,2%. Un total de 268 pacientes (62%) habían presentado recidiva (RECID) en el tratamiento previo mientras que 137 (31,7%) eran no-respondedores (NR) y 27 (6,2%) presentaron recidiva durante el tratamiento (BKT). El análisis con los criterios del estudio ÁGORA confirmó falta de adherencia en 1 (0,2%), dosis incompletas en 88 (20,4%), duración insuficiente del tratamiento previo debido a negativización tardía del ARN VHC en 246 (56,9%) y ausencia completa de respuesta en 97 (22,5%). Se aplicaron recomendaciones en 155 pacientes (adherencia 2,6%, trastornos hematológicos 45,2%, trastornos psiquiátricos 8,3% y resistencia a la insulina 52,9%). La tasa de RVR fue del 15,2% (G: 1 7,9%, G: 2/3: 53,3%, G:4 23,3%; $p < 0,0001$) de los cuales 8 (11%) eran NR. Un total de 335 (77,5) presentaron RVP (G: 1 75,8%, G: 2/3: 90,9%, G: 4 66,7%; $p < 0,03$) de los cuales 72 (52,6%) eran NR. Finalmente, 219 (50,7%) presentaron RVPc (G:1 44,8%, G: 2/3: 77,2%, G:4 59,3%; $p < 0,0001$) de los cuales 25 (18,2%) eran NR. Los pacientes NR con RVPc tenían menor carga viral y mayor frecuencia de G2/3.

Conclusiones: El análisis del tratamiento previo mediante los criterios ÁGORA aumentó significativamente la eficacia del re-tratamiento en pacientes con fracaso al tratamiento previo con PegIFN y RBV consiguiendo RVP completa en 1 de cada 5 pacientes NR.

P-80. INFECCIÓN OCULTA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B Y SOBREINFECCIÓN POR EL VIRUS DELTA EN PACIENTES SUBSAHARIANOS

A. Madejón^a, P. Rivas^b, M. Sánchez-Carrillo^a, S. Puente^b, M. Romero^a, I. Martín^a, V. Soriano^b y J. García-Samaniego^a

^aUnidad de Hepatología. CIBERehd; ^bDepartamento de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

Introducción: La infección oculta por el virus de la hepatitis B (VHB) se define por la presencia del genoma del VHB en el tejido hepático o suero de pacientes negativos para el antígeno de superficie (HBsAg). Existen pocos datos sobre la incidencia de sobreinfección por el virus delta (VHD) en esta población de pacientes, debido entre otras razones a que en la práctica clínica habitual la negatividad del HBsAg descarta la realización de las pruebas serológicas diagnósticas de infección por VHD.

Métodos: Se realizó un estudio transversal en 42 pacientes con infección por VIH originarios de Guinea Ecuatorial y atendidos en nuestro hospital. Todos los pacientes eran HBsAg-negativo/anti-HBc-positivo. Treinta y tres (77%) tenían además positividad de anti-HBs y 6 (14%) recibían tratamiento antirretroviral. La cifra de linfocitos T CD4⁺ (media \pm SD) fue de $355,88 \pm 241,7$ cel/ml. El ADN VHB sérico se determinó por nested-PCR de la región codificante RT/S. La serología delta se determinó por un ELISA comercial (Anti-HD kit, RADIM) y el ARN VHD por RT/nested-PCR. En las muestras con viremia delta positiva se amplificó la región codificante completa del antígeno delta (HDAg) y los amplicones se analizaron por secuenciación poblacional.

Resultados: El ADN VHB sérico fue positivo en 2 (5%) pacientes. No se detectaron mutaciones conocidas de resistencia a fármacos antivirales ni mutaciones de escape del HBsAg, aunque se reconoció un nuevo cambio nucleotídico (sK122N) en el lazo "a" del HBsAg. La serología VHD fue positiva en un único paciente que también tenía ARN VHD detectable y era ADN VHB negativo. Especialmente llamativa fue la detección de secuencias de ARN VHD sérico en otros 4 pacientes anti-VHD negativos (todos con linfocitos T CD4⁺ > 500). Se pudo amplificar la región codificante completa del HDAg de uno de ellos y mostró cambios puntuales (22D/N, 66E/G, 82G/D, 99R/G, 113R/Q y 132G/R) con respecto a los pacientes subsaharianos anti-VHD positivos. Considerando en conjunto los pacientes ADN VHB y ARN VHD positivos el porcentaje de infección oculta por VHB fue del 17% (7/42), con 5 (71%) pacientes sobreinfectados por VHD. Ningún paciente con infección oculta recibía tratamiento antirretroviral, todos tenían anti-HBs-positivo y mostraban cifras normales de AST/ALT.

Conclusiones: El VHD puede sobreinfectar a pacientes con infección oculta por VHB, lo que sugiere la necesidad de realizar pruebas serológicas de infección por VHD, particularmente ARN VHD, en algunas situaciones clínicas como la coinfección por VIH. El elevado porcentaje de superinfección observado en nuestro estudio sugiere que la detección de ADN VHB sérico puede subestimar la incidencia de infección oculta por VHD, cuyo significado clínico en pacientes VIH+ sin inmunodepresión grave debe ser investigado.

P-81. EFICACIA Y SEGURIDAD DE LOS TRATAMIENTOS BASADOS EN TELAPREVIR EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON VHC GENOTIPO 1 NO RESPONDEDORES AL TRATAMIENTO CON PEGINTERFERÓN/RIBAVIRINA: SUBANÁLISIS DEL ESTUDIO REALIZE DE FASE III

M. Diago^a, S. Pol^b, S.K. Roberts^c, P. Andreone^d, Z.M. Younossi^e, E. Lawitz^f, R. Focaccia^g, G.R. Foster^h, A. Horbanⁱ, I. Lonjon-Domanec^j, R. Demasi^k, R. Van Heeswijk^l, S. de Meyer^l, G. Picchio^k, J. Witek^k y S. Zeuzem^m

^aHospital General de Valencia. España.

^bUniversité Paris Descartes. Francia.

^cAlfred Hospital. Department of Gastroenterology. Melbourne. Australia.

^dUniversità di Bologna. Bologna. Italia.

^eInova Fairfax Hospital. Center for Liver Diseases and Department of Medicine. Falls Church. VA. EE.UU.

^fAlamo Medical Research. San Antonio. EE.UU.

^gEmilio Ribas Infectious Diseases Institute. São Paulo. Brasil.

^hQueen Mary University of London. Institute of Cell and Molecular Science. London. Reino Unido.

ⁱMedical University of Warsaw. Warsaw. Polonia.

^jJanssen Pharmaceuticals. París. Francia.

^kTibotec Inc.. Titusville. EE.UU.

^lTibotec BVBA. Beerse. Bélgica.

^mJohann Wolfgang Goethe University Medical Center. Frankfurt am Main. Alemania.

Introducción: En este subanálisis del estudio REALIZE se valoró la eficacia y seguridad de telaprevir (TVR, T) más PR en pacientes G1 con cirrosis no respondedores al tratamiento con PR.

Métodos: Los pacientes fueron aleatorizados para un total de 48 sem de tratamiento con PR o uno de los dos grupos de tratamiento: 12 sem T/PR + 36 sem PR o 4 sem de PR + 12 sem de T/PR + 32 sem de PR. Las variables de eficacia y seguridad fueron re-analizadas en los pacientes con o sin cirrosis basal.

Resultados: Se incluyeron en el análisis 578 sujetos con información basal completa. Los pacientes cirróticos (n = 143) eran ligeramente mayores y más propensos a ser respondedores nulos. T/PR estuvo asociado a mayores tasas de RVS comparándolo con PR en pacientes con cirrosis. Los pacientes cirróticos tenían menores tasas de RVS que los no-cirróticos (excepto en pacientes con recaída previa), de igual manera el efecto del tratamiento T/PR vs PR se mantuvo (tabla). Los pacientes cirróticos que recibieron T/PR, con LDL basal elevado, ALT o AST basal elevada, y respuesta previa a PR estuvieron significativamente asociados con RVS en el análisis univariable; los últimos dos factores también predijeron RVS en el análisis multivariable (p < 0,025). En los pacientes que fallaron en

el tratamiento con T/PR, no hubo asociación entre la presencia o nivel de resistencia al TVR y el grado de fibrosis. Las erupciones cutáneas, prurito y anemia (Hb < 10 g/dL) fueron más frecuentes en los pacientes cirróticos que recibieron T/PR (43%, 55%, 44% respectivamente) que los que recibieron PR (27%, 35%, 27%, respectivamente).

Conclusiones: T/PR se asoció al incremento en la tasa de RVS vs PR independiente a la cirrosis, aunque los pacientes cirróticos tuvieron menor tasa de RVS que los no-cirróticos. En los pacientes cirróticos, la respuesta previa al tratamiento con PR y ALT o AST basal elevada fueron predictores de la respuesta al tratamiento con T/PR.

P-82. PRÁCTICAS DE CRIBADO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) PREVIO AL TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR POR PARTE DE DIFERENTES ESPECIALIDADES MÉDICAS (PROYECTO HEBRA): RESULTADOS DE UNA ENCUESTA EN 18 HOSPITALES ESPAÑOLES

M. García-Bengoechea^a, J. Crespo^b, F. Gea^c, J.M. Zozaya^d, J.A. Pons^e, M.A. Simón^f, R. Gómez^g, R. Solá^h, E. Suárezⁱ, F. Jorquera^j, M. Prieto^k, M.I. Fernández Bermejo^l, J.M. Pascasio^m, J.L. Callejaⁿ, P. Vaquer^o, M. Buti^o, J. García Samaniego^p, J. Salmerón^q, M. Rodríguez^r y R. Esteban^o

^aHospital Nuestra Señora de Aránzazu. San Sebastián. España.

^bHospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

^cHospital La Paz. Madrid. España.

^dHospital de Navarra. Pamplona. España.

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

^fHospital Clínico de Zaragoza. España.

^gHospital Virgen de la Salud. Toledo. España.

^hHospital del Mar. Barcelona. España.

ⁱHospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

^jComplejo Hospitalario de León. España.

^kHospital La Fe. Valencia. España.

^lHospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. España.

^mHospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

ⁿHospital Puerta de Hierro. Madrid. España.

^oHospital Son Espases. Baleares. España.

^pHospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.

^qHospital Carlos III. Madrid. España.

^rHospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

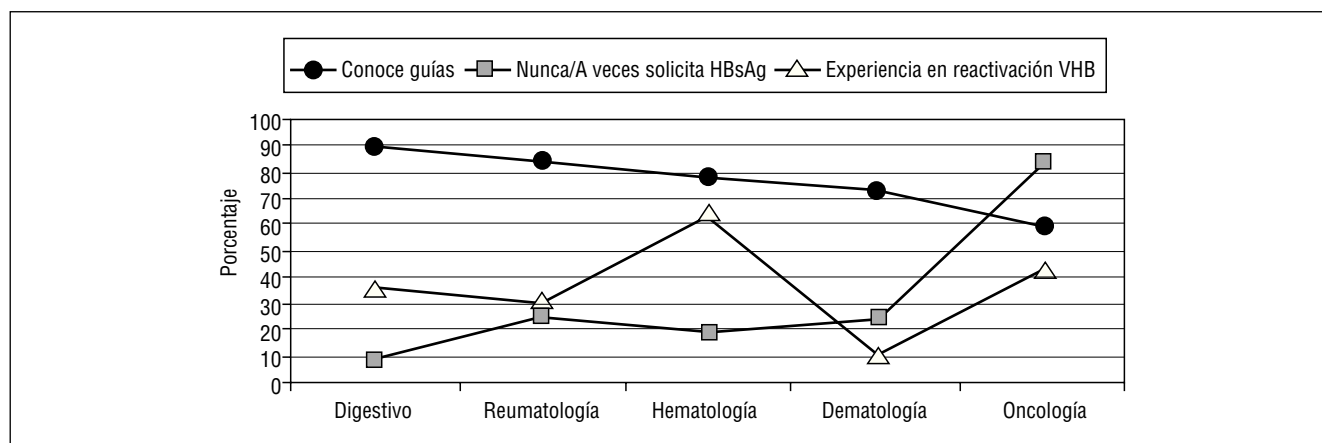
^sHospital Central de Asturias. Oviedo. España.

Introducción: El uso de inmunosupresores es habitual en diferentes especialidades médicas. En el paciente con exposición previa al VHB se ha demostrado un riesgo considerable de reactivación por ese uso. En España se estima una población en riesgo de reactivación del VHB de 89.053 personas nuevas al año. En encuestas realizadas en varios países se ha evidenciado que el cribado previo del VHB en el paciente que va a recibir inmunodepresión no es una práctica extendida.

Métodos: Un panel de expertos con 20 hepatólogos consensuó una escala de riesgo y derivación del paciente que va a recibir inmunosupresión y una encuesta a realizar entre especialidades implicadas en la misma. La encuesta constó de 20 ítems: sobre el encuestado (7), su experiencia y conocimiento del tema (5) y sus prácticas de cribado del VHB y manejo (8).

Resultados: Se incluyeron 18 hospitales y 471 especialistas: Hematología (113), Oncología (108), Aparato Digestivo (95), Reumatología (62), Dermatología (62) y otras (31). El perfil fue mayoritariamente femenino (54%) con un promedio de edad de 43 años y 16 años de experiencia profesional. El 76% afirmaba conocer las recomendaciones de manejo del riesgo de reactivación del VHB. Este conocimiento fue mayor entre Digestivo y Reumatología (>

Características basales	Pacientes cirróticos (n = 143)	Pacientes no cirróticos (n = 435)
Media de edad (DE), años	54 (8)	50 (9)
Hombre, n (%)	104 (73)	294 (68)
Media de carga viral log (DE)	6,57 (0,53)	6,56 (0,58)
Respuesta previa a PR, n (%)		
No respondedores	51 (36)	113 (26)
Respondedores parciales	29 (20)	79 (18)
Recaedores	63 (44)	243 (56)
Pacientes con RVS, n/N (%)		
T/PR agrupados	57/117 (49)	249/348 (72)
PR	2/26 (8)	17/87 (20)



80%) y menor para Oncología (60%), $p < 0,0001$. 195 de los encuestados afirmaron tener experiencia directa en casos de reactivación del VHB, con un total de 421 casos, la mayoría en Hematología (156), Oncología (96) y Digestivo (77). Respecto al cribado pretratamiento inmunosupresor el 36% nunca o solo a veces indagaba sobre factores de riesgo de hepatitis B y 34% nunca o solo a veces solicitaba el HBsAg antes de iniciarlo. Este último dato era menor en Digestivo (9%) y mayoritario en Oncología (84%), $p < 0,0001$.

Conclusiones: Las prácticas de cribado para el VHB varían entre las especialidades médicas y dependen más del grado de conocimiento de las guías que de la experiencia directa en casos de reactivación.

P-83. LOS TRATAMIENTOS CONTRA LA RESISTENCIA A LA INSULINA INHIBEN LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN UN SISTEMA IN VITRO

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

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

Introducción: La hepatitis C crónica está ligada a la aparición de resistencia a la insulina y esteatosis. Esta asociación a nivel molecular no es bien conocida, por tanto es necesario el estudio en presencia del virus de las distintas proteínas implicadas en la vía de señalización de la insulina, y así poder identificar nuevas dianas terapéuticas. El objetivo de este trabajo es analizar cambios en la expresión de los genes de la VSI en la línea de hepatoblastoma Huh 7.5 infectadas con el replicón JFH1, en presencia de rapamicina, metformina, interferón α o insulina.

Métodos: Se cultivaron células de la línea Huh7.5.1 a las que se añadieron distintos tratamientos con insulina (10 nM), interferón α 2a (500 U/ml), rapamicina (10 nM), metformina (2 mM) y sus combinaciones. Se infectaron con el virus JFH1 (1virus/célula), cambiando el medio a las 24 o 48 h de la infección. La extracción del RNA se realizó 48 h después del cambio del medio. Se cuantificó la expresión de los genes por qRT-PCR.

Resultados: La expresión de los genes IRS1, PTP1, MAP3K, mTOR, PI3K, AKT con los distintos tratamientos empleados presentan el mismo patrón. Con rapamicina la expresión de todos los genes se ve aumentada, aunque con metformina solo aumentan MAP3K, AKT y PI3K (tabla). En presencia de interferón a la expresión de los genes no varía con los distintos tratamientos, a excepción de la interacción rapamicina-interferón que aumenta la expresión de todos los genes en presencia de JFH1. Se ha observado que los tratamientos empleados afectan la tasa de replicación viral: la metformina y la

Expresión de los genes de la vía de señalización de la insulina en células infectadas con el replicón JFH1 con distintos tratamientos

		Metformina		Rapamicina		Rapamicina + interferón α
		24h	48h	24h	48h	48h
IRS1	Control	1,2	1,3	1,4	2,2	1
JFH1		1,3	1,6	2	2,2	3,4
PTP	Control	1,3	1,1	1,8	1,5	2
JFH1		1	1,1	1,6	1,3	3,8
PI3K	Control	1	1,6	1,3	1,9	2,85
JFH1		2,3	1,2	3	1,7	4,53
MTOR	Control	1,1	1	1,7	1,7	1,5
JFH1		2,5	1	4,5	1,4	2,2
AKT	Control	1,8	1,5	2	2,4	4,61
JFH1		2	1,7	3	2,8	6
MAP3K	Control	1,65	1,5	2,6	2,7	2,4
JFH1		4,1	1,5	6,5	2,4	4,5

rapamicina inhiben la replicación viral al 77% y 68% respectivamente, comparada con la eficacia del interferón (100%).

Conclusiones: El VHC modula la expresión de los genes proteín-quinasas de la vía de señalización de la insulina. Los tratamientos con metformina y rapamicina inhiben la replicación viral pudiendo constituir una alternativa terapéutica contra la VHC.

P-84. INFLUENCIA DE LA SECUENCIA DE LA PROTEÍNA DEL CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C SOBRE LA PREDICCIÓN DE RESPUESTA DE LA REGIÓN IL28B EN EL TRATAMIENTO CON PEGIFN Y RIBAVIRINA

A. Madejón^{a,b}, N. Rallón^c, M. Romero^{a,b}, A. García-Sánchez^{a,b}, I. Martín^{a,b}, M. Sánchez-Carrillo^{a,b}, A. Fernández-Yunquera^b, J. Carbó^b y J. García-Samaniego^{a,b}

^aCIBERhd.

^bUnidad de Hepatología; ^cDepartamento de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

Introducción: El genotipo de la región IL28B es un importante factor predictor de respuesta viral sostenida (RVS) al tratamiento

con pegIFN + ribavirina. Sin embargo, existen pacientes con genotipo favorable de la IL28B que no alcanzan RVS. El objetivo de este estudio fue analizar el papel de la proteína del core del VHC sobre la RVS en pacientes con genotipos CC o no CC de la IL28B.

Métodos: Se analizaron muestras basales de suero de 28 pacientes con hepatitis crónica C de genotipo 1b. Todos los pacientes fueron tratados con pegIFN alfa 2a y ribavirina. La viremia C se cuantificó por RT-PCR (Abbott 2000). La región codificante del core viral se analizó mediante amplificación con nested-PCR "in house", seguida de secuenciación poblacional y análisis con el paquete filogenético MEGA 4.0. Los polimorfismos de IL28B (rs 12979860) se analizaron mediante metodología TaqMan estándar.

Resultados: La distribución de los polimorfismos de la región IL28B fue la siguiente: CC en 10 (36%), CT en 14 (50%) y TT en 4 (14%) pacientes. La tasa de RVS fue del 70% (7/10) en los pacientes CC y del 57% (8/14) en los pacientes CT. No se obtuvo RVS en ninguno de los 4 pacientes TT. No se observaron diferencias en las cifras de viremia o en la raza entre los pacientes con y sin RVS, independientemente del genotipo de la IL28B. El análisis de la secuencia del core viral mostró un alto grado de homología (88%) con solo 15 aminoácidos variables. Se encontraron diferencias significativas a nivel de aminoácidos entre pacientes con o sin RVS dentro de cada genotipo de IL28B: en pacientes CC el aminoácido en posición 75 fue alanina en los 3 no respondedores y treonina en los 7 con RVS. Asimismo, el aminoácido en posición 91 fue cisteína en los 7 (100%) pacientes CC y en 4/8 (50%) CT con RVS. Por el contrario, ninguno de los pacientes sin RVS presentaba una cisteína en posición 91. Finalmente, se encontraron cambios menores en pacientes CC con o sin RVS (posiciones 48 y 106).

Conclusiones: Los datos obtenidos sugieren que la proteína del core del VHC puede jugar un papel en la respuesta al tratamiento con pegIFN + ribavirina. La ausencia de RVS en pacientes con genotipo CC de la IL28B parece guardar relación con cambios específicos en la secuencia del core viral (posiciones 74 y 91).

P-85. EFECTO DE DOSIS BAJAS Y DURADERAS DE CORTICOIDES EN PACIENTES CON HEPATOPATÍA CRÓNICA POR VIRUS C

M. Romero Gutiérrez^a, R. Bárcena Marugán^b, S. del Campo Terrón^b, J.J. Sánchez Ruano^a, T. Artaza Varasa^a y A. Moreno Zamora^c

^aServicio de Aparato Digestivo. Complejo Hospitalario de Toledo. España.

^bServicio de Gastroenterología; ^cServicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

Introducción: El efecto de dosis bajas de corticoides (CC) sobre la hepatopatía crónica virus C (HCVC) no está bien establecido. Pacientes con HCVC pueden requerir CC por otras comorbilidades.

Objetivos: Analizar el efecto de los CC con o sin azatioprina (AZA) a dosis bajas y periodos de tiempo (T°) prolongados en pacientes con HCVC, sobre la evolución de la enfermedad valorada por su actividad bioquímica, carga viral y fibrosis hepática mediante biopsia hepática (BH) y/o FibroScan® (FS).

Métodos: Estudio observacional prospectivo en pacientes con HCVC tratados con CC a dosis bajas (≤ 30 mg/día) con o sin AZA durante > 6 meses. Incluimos 28 pacientes, 7 en tratamiento con CC previo al inicio del seguimiento, en los que se incluyeron 3 valores de transaminasas y viremia durante el tratamiento; y 21 en seguimiento antes de comenzar a tomar CC, en los que se determinaron transaminasas y viremia tanto antes del tratamiento como durante el mismo (< 3 meses, 3-9 meses, 9-12 meses, 12-24 meses y > 24 meses). 18 pacientes disponían de BH y/o FS previo y tras al menos 1 año de tratamiento. Comparamos los datos analizados con un grupo control (2 controles por caso) de pacientes con HCVC sin ningún tratamiento. En los controles determinamos transaminasas y vire-

mia 2 veces y realizamos 2FS, todo separado al menos por 1 año.

Resultados: Edad media: $47,19 \pm 10,38$ años. 42,9% eran varones. Dosis media de prednisona: $9,14 \pm 4,92$ mg/día (R: 2,5-30 mg/día). T° medio de tratamiento: $76,3 \pm 79,6$ meses (R: 7,4-349,4 meses). 35,7% tomó de forma concomitante AZA. En los pacientes con CC, las transaminasas descendieron significativamente en los 3 primeros meses de tratamiento respecto a su valor basal (GOT $93,7 \pm 99,6$ vs $55,2 \pm 42,9$ UI/ml, $p = 0,038$; GPT $135,1 \pm 149,1$ vs $82,8 \pm 77$ UI/ml, $p = 0,033$). Posteriormente no hubo cambios significativos durante el tratamiento. No hubo variación significativa en las transaminasas del grupo control. Los CC causaron un incremento no significativo de la viremia, que no fue estadísticamente diferente de las variaciones del grupo control. En los pacientes tratados, y en valores absolutos, se produjo un aumento no significativo del estadio de fibrosis (de 2,11 a 2,25 ($p = 0,47$) en un T° medio de seguimiento de $123,64 \pm 88,01$ meses), que fue menor que la progresión en el grupo control (de 1,77 a 2,02 ($p = 0,007$) en un T° medio de seguimiento de $21,62 \pm 7,87$ meses). Cuando corregimos la progresión del estadio de fibrosis, por el T° transcurrido entre las exploraciones (fibrosis final-fibrosis inicial/T° entre exploraciones en años; Poyndar et al, 1997), la progresión fue también menor en los casos tratados ($0,054 \pm 0,25$ unidades frente a $0,196 \pm 0,6$ unidades), pero sin diferencia significativa ($p = 0,16$).

Conclusiones: En pacientes con HCVC los CC causaron un descenso inicial significativo de las transaminasas. No hubo cambios significativos en la carga vírica. La progresión de la fibrosis con CC fue menor que en el grupo control, sin diferencia significativa.

P-86. LA MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS CÉLULAS T REGULADORAS EN COMBINACIÓN CON LA ADMINISTRACIÓN DE IL-12 EN UN MODELO DE HEPATITIS VIRAL CRÓNICA INDUCE UN EFECTO REBOTE AUMENTANDO EL ENTORNO TOLEROGÉNICO DEL HÍGADO

I. Otano^a, L. Suárez^a, C. Olagüe^a, M. González^a, J. Dotor^a, A. Benito^b, R. Hernández^a, J. Prieto^{a,c} y G. González Aseguinolaza^a

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

^bRadiología; ^cUnidad de Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

La infección por el virus de la hepatitis B constituye una de las enfermedades virales más frecuentes a nivel mundial. Se estima que 2 mil millones de personas son portadoras del HBV, de las cuales 350 millones desarrollan una hepatitis crónica. La infección crónica por HBV es la principal responsable del carcinoma hepatocelular (HCC). La Marmota monax es un importante modelo animal para el estudio de la infección crónica por HBV. La marmota se infecta de manera natural por el virus de la hepatitis de la marmota (WHV), el cual es muy similar al HBV. La respuesta inmune del huésped juega un papel esencial en el control y en la patogenia de la infección por HBV. En los pacientes con infección crónica se observa una respuesta inmune primaria incompleta y su respuesta adaptativa es de baja intensidad o indetectable, lo cual deriva en una infección persistente, y que además es responsable del daño hepático continuado. Aunque todavía se desconocen las causas de las diferencias en la inmunidad adaptativa entre pacientes infectados crónicamente y los que consiguen eliminar la infección, se han observado ciertos factores que favorecen la progresión de la cronicidad como ciertas citoquinas anti-inflamatorias (TGF- β 1, IL-10), o las células T reguladoras. Estudios recientes realizados por nuestro grupo mostraron que la transferencia génica al hígado de la IL-12 a marmotas crónicamente infectadas por el WHV mediante un adenovirus de alta capacidad, resultó en la resolución de la enfermedad

únicamente en aquellos animales con una viremia basal menor de 1010 genomas virales/ml. Sin embargo, en los animales con una viremia basal mayor de 1010 genomas virales/ml no detectamos ningún descenso significativo en la viremia. El análisis de expresión mediante PCRq del marcador de células T reguladoras FoxP3, los inhibidores de actividad (PD-1 y PDL-1) y las citoquinas inmunosupresoras (TGF- β 1 e IL-10); mostró que se encontraban significativamente sobre expresados en el tejido hepático de las marmotas crónicamente infectadas por WHV con respecto a las marmotas sanas. Por ello, decidimos tratar a marmotas crónicamente infectadas por el WHV y de alta viremia con la inmuno estimulación con IL-12 en combinación con inhibidores de la actividad del TGF- β 1, o depleción de las células Treg mediante administración de bajas dosis de ciclofosfamida. Nuestros resultados muestran cómo estas terapias llevan a la reactivación transitoria de los PBLs en cuanto a su estimulación con IL-12m, y en algunos casos se consigue romper la tolerancia frente a antígenos virales. Sin embargo, no se observó una disminución de la carga viral y contrariamente a lo esperado, se observó un aumento en la expresión de marcadores implicados en inmunosupresión a nivel hepático. Por ello, el aumento del ambiente tolerogénico hace aún más difícil la recuperación de la respuesta antiviral.

P-87. RESULTADOS DE UN CRIBADO DE INSUFICIENCIA RENAL EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA: PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS

S. Aoufi Rabi^a, R. García Agudo^b, F. Ruiz Carrillo^a, F. Pérez Roldán^a, P. González Carro^a, O. Roncero García-Escribano^a, M. Ynfante Ferrús^a, E. Bernardos Martín^a, M.L. Legaz Huidobro^a, N. Sánchez-Manjavacas Muñoz^a y J.M. Tenías Burillo^c

^aServicio de Aparato Digestivo; ^bServicio de Nefrología; ^cUnidad de Apoyo a la Investigación. Complejo Hospitalario La Mancha-Centro. Ciudad Real. España.

Introducción: La infección crónica por el VHC se ha asociado a múltiples manifestaciones extrahepáticas. Varios autores han descrito un aumento de la prevalencia de microalbuminuria y de insuficiencia renal (IR) en los sujetos VHC(+) con respecto a los VHC(-). La microalbuminuria es un parámetro de expresión de daño renal, un factor de riesgo de progresión de IR y de morbimortalidad cardiovascular y se ha relacionado con cambios necroinflamatorios a nivel hepático en la hepatitis C crónica. La patología glomerular se manifiesta mediante proteinuria y/o hematuria con o sin disfunción renal. La reducción de la proteinuria y el

control de otros factores de riesgo cardiovascular pueden modificar la progresión de la enfermedad renal y modificar el pronóstico de estos pacientes.

Objetivos: Determinar la prevalencia de microalbuminuria e IR en los pacientes VHC(+) en comparación con un grupo control y estudiar su asociación con factores de riesgo.

Métodos: Se realizó un estudio observacional analítico de tipo transversal. Se incluyeron todos los pacientes VHC(+) de la Consulta de Hepatología (120 sujetos), que fueron comparados con un grupo control (145 sujetos) constituido por pacientes atendidos en las consultas de Aparato Digestivo por una causa no hepatológica. Se excluyeron los pacientes con gestación y/o cólico nefrítico, infección urinaria, coinfección por VHB o VIH y/u otras causas de hepatopatía crónica. Se recogieron datos de la historia clínica y anamnesis: sexo, edad, tabaquismo, enolismo, obesidad, HTA, diabetes, varices, ascitis, esplenomegalia, HTP, enfermedades renales, enfermedades autoinmunes. Se solicitó creatinina, filtrado glomerular por la fórmula MDRD-4, sedimento urinario, microalbuminuria, índice microalbuminuria/creatinina, plaquetas, tiempo de protrombina, transaminasas, bilirrubina, albúmina, viremia, genotipo, ecografía y estimación de fibrosis hepática (índice de Forns, APRI y FIB-4) en los sujetos no biopsiados. Las pruebas de función renal se repitieron al menos tres veces durante un año para su confirmación.

Resultados: Las características epidemiológicas de ambos grupos fueron similares. La prevalencia de microalbuminuria se estimó en el 19,3% en los VHC(+) vs 10,5% en los VHC(-) ($p < 0,04$), correlacionándose significativamente con el sexo (27,9% hombres vs 10,3% mujeres), edad, HTA (41,7% vs 16,3%), fibrosis hepática, ascitis (66,7% vs 17,9%) e HTP (38,5% vs 13,4%). Se halló deterioro de la función renal (IR crónica estadios 3-5) en el 11,7% vs 0,7% ($p < 0,001$) y se asoció de forma significativa con la edad ($68,5 \pm 14,4$ vs $55,1 \pm 15,7$), hipertensión arterial (33,3% vs 7,3%), GOT, GPT y ascitis (50% vs 10,3%). El VHC se asoció de forma independiente (a otros factores de riesgo de daño renal) y significativa con la probabilidad del deterioro de función renal (MDRD < 60 ml/min). Tuvieron más probabilidad de padecer IR los pacientes con varices (OR 3), ascitis (OR 9,2) y esplenomegalia (OR 1) (IC95%).

Conclusiones: Los pacientes VHC(+) tienen una alta prevalencia de microalbuminuria e IR en comparación con individuos VHC(-). El sexo masculino, la edad y la HTA se asocian a mayor presencia de daño renal, así como la fibrosis hepática, la hipertensión portal y la ascitis. Se aconseja la implantación de programas de cribado de microalbuminuria e IR con el fin de detectar patología renal subclínica y recibir un tratamiento precoz para evitar su progresión y el ensombrecimiento del pronóstico de los pacientes.

Porcentajes de supervivencia en los tres centros

Centro	Índice	% supervivencia			
		1 año	3 años	5 años	7 años
Hannover (n = 75)	BEA-A	100	94	94	94
	BEA-B	100	88	66	49
	BEA-C	86	57	38	19
Barcelona (n = 78)	BEA-A	100	100	100	100
	BEA-B	91	85	77	73
	BEA-C	50	50	0	0
Dusseldorf (n = 63)	BEA-A	100	97	97	93
	BEA-B	93	80	80	73
	BEA-C	50	0	0	0

P-88. DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UN ÍNDICE DE ANTICIPACIÓN DE EVENTOS BASALES (BEA) PARA LA HEPATITIS DELTA

B. Calle-Serrano^a, B. Heidrich^a, M. Homs^{b,c}, A. Erhardt^d, K. Deterding^a, J. Jaroszewicz^a, M.P. Manns^a, M. Buti^{b,e}, R. Esteban^{b,e} y H. Wedemeyer^a

^aDepartment of Gastroenterology, Hepatology and Endocrinology, Hannover Medical School, Alemania.

^bCIBERehd.

^cDepartament de Bioquímica; ^dDepartament d'Hepatology, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, España.

^eDepartment of Gastroenterology, Hepatology and Infectious Diseases.

Heinrich-Heine-University of Dusseldorf, Alemania.

Introducción: La hepatitis delta (HD) es la forma más agresiva de las hepatitis virales y está asociada a una aparición temprana de complicaciones hepáticas. El objetivo del estudio fue establecer un índice para determinar el riesgo de desarrollar complicaciones hepáticas. Además, la evolución de los pacientes con HD se comparó con pacientes mono infectados por el VHB.

Métodos: Se incluyeron un total de 141 pacientes, seguidos durante una media de 5 años. Los casos anti-HD positivos (N = 75) y los negativos (N = 66) se analizaron según edad, sexo, región de origen, HBeAg, anti-HCV y índice MELD basales. La descompensación hepática (ascitis, sangrado esofágico o encefalopatía), el hepatocarcinoma, el trasplante hepático o la muerte por causa hepática fueron considerados eventos finales. El índice fue validado en dos cohortes de pacientes de diferentes centros (N = 78 y N = 68).

Resultados: La regresión de Cox mostró que los pacientes anti-HD+ tenían un riesgo significativamente mayor de sufrir complicaciones hepáticas (anti-HD + vs - a los 4 años 51 vs 80% y a los 8 años 16 vs 25%, p = 0,0002). La edad (> 40 años, HR = 2,1), el país de origen (Turquía, HR = 3,8), la bilirrubina (> ULN, HR = 2,2), plaquetas (< 100.000/uL y < 50.000, HR = 6,65 y HR = 11,6) y el INR (> 1,2, HR = 3,1) basales se asociaron al desarrollo de complicaciones hepáticas (p < 0,05). También se incluyó el sexo (hombres, p = 0,08). El índice-BEA clasifica la evolución de los pacientes en riesgo leve (BEA-A = 2), moderado (BEA-B = 2-4) y alto (BEA-C > 5). El índice-BEA mostró ser excelente para predecir eventos clínicos (BEA-A HR = 1, BEA-B HR = 10,9 y BEA-C HR = 31,3) y presentó una AUC = 0,821. La validación del índice por parte de los otros centros confirmó su precisión (tabla).

Conclusiones: La HD está asociada a una peor evolución, en comparación con los pacientes mono infectados por el VHB. El índice-BEA es de aplicación fácil y predice con elevada precisión el desarrollo de complicaciones hepáticas en pacientes con HD.

P-89. ALTERACIÓN DEL PERFIL DE LIPOPROTEÍNAS EN LOS PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

J.A. Gómez-Gerique, A. Díaz, J. Cabezas, M. Bautista, S. Menéndez, G. San Miguel, E. Fábrega, J. Crespo y F. Pons

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, España.

Introducción: La replicación del VHC está íntimamente relacionada con el metabolismo lipídico del huésped, por lo que cambios en las lipoproteínas se pueden asociar a cambios en el comportamiento de la enfermedad por el VHC.

Objetivos: Analizar la composición de las lipoproteínas plasmáticas en pacientes con HC-VHC genotipo I, analizando su potencial relación con el polimorfismo de la interleucina 28B.

Métodos: Se efectuó un estudio caso-control incluyendo 50 pacientes con HC-VHC genotipo I (grupo I) y 45 sujetos sanos pareados por edad y sexo (grupo II). No se incluyeron sujetos diabéticos, obesos, HTA, con consumo de alcohol significativo o en tratamiento

con hipolipemiantes. Se determinó la concentración total de las lipoproteínas (VLDL, LDL, HDL) así como la composición de cada una de ellas (colesterol total, triglicéridos, fosfolípidos, proteínas, apolipoproteína B, relación lipoproteína/triglicéridos totales, masa VLDL, LDL y HDL, número partículas VLDL, LDL y HDL, moléculas de colesterol por partícula y moléculas de triglicéridos por partícula). Asimismo, se determinó la carga viral del VHC y los polimorfismos de la IL28B.

Resultados: De forma global, el colesterol total (182,1 vs 211,1 mg%, p: 0,0002), los fosfolípidos (202,9 vs 235,1 mg%; p: 0,0002), el cHDL (52,9 vs 63,2 mg%; p: 0,01) y la apo B (79,0 vs 97,5 mg%; p: 0,002) fueron significativamente más elevados en los sujetos control que en los pacientes con HC-VHC. Respecto a la composición de las lipoproteínas, existió una diferencia discreta respecto a la VLDL, expresado únicamente en una disminución del componente fosfolipídico (26,8 vs 36,1 mg%; p: 0,01). Las diferencias fueron máximas en la composición de las LDL, siendo menores en pacientes VHC positivos los fosfolípidos (78,9 vs 100,0 mg%; p: 0,001), la apoB (66,9 vs 81,3; p: 0,003), la masa LDL (2.468 vs 2.894 mg/L; p: 0,007) y el número de partículas (746.130 vs 906.506 n/pL; p: 0,003). Finalmente, el colesterol total de las HDL (52,9 vs 63,2 mg%; p: 0,01) y las proteínas de las HDL (1.164,6 vs 1.017,6 mg/L; p: 0,04) fueron también menores en los pacientes con HC-VHC. La distribución de los polimorfismos de la IL28B fueron CC 13 (26%), CT 29 (58%) y TT 8 (16%). Aunque la alteración del metabolismo lipídico tiende a ser más severa en los pacientes con genotipo TT y en aquellos que no respondieron al tratamiento antiviral, las diferencias no alcanzaron la significación estadística.

Conclusiones: En los pacientes con HC-VHC existe una profunda alteración la composición de las lipoproteínas plasmáticas. Esta alteración pudiera estar en relación con la posibilidad de una respuesta virológica sostenida.

Miscelánea

P-90. FACTORES PREDICTIVOS DE ABSTINENCIA EN PACIENTES EVALUADOS PARA TRASPLANTE HEPÁTICO POR HEPATOPATÍA ALCOHÓLICA

J. Michelena^a, J. Altamirano^a, R. Bataller^a, A. Cárdenas^b, N. Freixa^c, M. Monràs^c, J. Ríos^{d,e,f}, J. Caballería^a, A. Gual^c y A. Lligóna^c

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

^bUnidad de Gastroenterología, Hospital Clínic de Barcelona, España.

^cUnidad de Alcoholología, Departamento de Psiquiatría, Instituto de Neurociencias, Hospital Clínic de Barcelona, España.

^dCIBERehd.

^eIDIBAPS.

^fLaboratorio de Bioestadística y Epidemiología, Universidad Autónoma de Barcelona, Unidad de Soporte Estadístico y de Metodología, Hospital Clínic de Barcelona, España.

Introducción: La cirrosis alcohólica es una de las indicaciones más frecuentes de trasplante hepático (TOH). Una buena selección de los pacientes mediante un equipo multidisciplinar es fundamental en la prevención de la recidiva alcohólica. Existe escasa información sobre las características psicosociales de los pacientes en el momento de la evaluación inicial para TOH después de una abstinencia de 6 meses.

Objetivos: Determinar, en una cohorte de cirróticos alcohólicos remitidos para evaluación de TOH, 1) los factores asociados al

Factores asociados con el abandono del consumo de alcohol* y la abstinencia de 6 meses en el análisis multivariado

	OR	IC95%	p
Abandono del consumo de alcohol			
Conciencia de toxicidad	5,84	1,31-26,11	0,02
Reconocimiento familiar	3,81	1,27-11,41	0,01
Conciencia de dependencia	1,02	0,41-2,62	0,95
Tratamiento alcoholológico previo	0,34	0,60-1,98	0,23
Actitud del paciente			
Honesta	2,97	0,55-15,98	0,13
Defensiva-negativa	1,28	0,27-6,02	0,74
Abstinencia de 6 meses			
Abandono del consumo de alcohol*	5,50	1,12-19,81	0,009
Conciencia de toxicidad	3,05	1,12-9,22	0,05
Reconocimiento familiar	5,21	1,25-24,15	0,03
Conciencia de dependencia	2,42	0,51-11,41	0,36
Tratamiento alcoholológico previo	3,57	0,82-15,56	0,07
Actitud del paciente			
Honesta	2,41	0,39-14,76	0,33
Defensiva-negativa	0,70	0,22-2,24	0,55
Consumo de cerveza sin alcohol	2,57	0,80-8,25	0,13

OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

*Abandono del consumo de alcohol en el momento del diagnóstico de hepatopatía alcohólica.

abandono del consumo de alcohol en el momento del diagnóstico de hepatopatía alcohólica (EHA), 2) los factores asociados con la abstinencia de alcohol de 6 meses, previo a la evaluación psicossocial inicial y 3) el impacto del consumo de cerveza sin alcohol en el mantenimiento de la abstinencia.

Métodos: Se incluyó 90 pacientes remitidos a la Unidad de Alcoholología del Hospital Clínic de Barcelona. Para identificar los factores asociados con el abandono del consumo de alcohol y la abstinencia de 6 meses, se realizó un análisis de regresión logística univariada y multivariada.

Resultados: los factores asociados con el abandono del consumo de alcohol en el momento del diagnóstico de EHA fueron la conciencia de toxicidad (OR = 5,84, IC95% 1,31-26,11) y el reconocimiento familiar (OR = 3,81, IC95% 1,27-11,41). El abandono del consumo al diagnóstico de EHA (OR = 5,50, IC95% 1,52-19,81), la conciencia de toxicidad (OR = 2,99, IC95% 1,02-9,22) y el reconocimiento familiar (OR = 5,21, IC95% 1,12-24,15) fueron los factores asociados a una abstinencia de 6 meses antes de la evaluación para TOH. El uso de cerveza sin alcohol se asoció con una mayor tasa de abstinencia en pacientes que no habían abandonado el consumo de alcohol al diagnóstico de EHA.

Conclusiones: La conciencia de toxicidad del alcohol y el reconocimiento familiar son los factores que influyen en el abandono del consumo de alcohol y la abstinencia de 6 meses en pacientes evaluados para TOH.

P-91. ANÁLISIS GENÓMICO INTEGRAL DEL COLANGIOCARCINOMA HUMANO INTRAHEPÁTICO

D. Sia^{a,b}, Y. Hoshida^c, A. Villanueva^a, S. Roayaie^d, J. Ferrer^a, B. Tabak^c, J. Peix^a, M. Solé^a, V. Tovar^a, C. Alsina^a, H. Cornella^a, J.B. Fan^e, C. Cotsoglou^b, S. Thung^d, J. Fuster^a, J.C. García-Valdecasas^a, J. Bruix^a, M. Schwartz^d, R. Beroukhi^c, V. Mazzaferro^b y J.M. Llovet^{a,d,f}

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

^bIstituto Nazionale dei Tumori. Milán. Italia.

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

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

^eIllumina Inc. San Diego. California. EE.UU.

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

Introducción: El colangiocarcinoma intrahepático (CCI) representa el segundo tumor hepático primario más frecuente tras el carcinoma hepatocelular (CHC). Las alteraciones moleculares que caracterizan esta neoplasia no son conocidas, por lo cual tampoco se ha propuesto ninguna clasificación molecular.

Objetivos: 1. Identificar subclases moleculares de CCI; 2. Identificar alteraciones genéticas que sugieran la presencia de oncogenes en una cohorte de tumores resecados.

Métodos: Se estudió el perfil de expresión génica de 149 muestras parafinadas de CCI mediante DASL (Illumina). Las alteraciones cromosómicas se evaluaron mediante CytoSNP12 (Illumina) y la secuenciación por Sanger se aplicó para la identificación de mutaciones en KRAS, EGFR, BRAF y TP53. Previamente a la extracción del ARN y ADN, se macro-disecionaron las muestras. El algoritmo NMF se utilizó como método de agrupamiento no supervisado para la identificación de las clases moleculares. La caracterización funcional de las clases y la evaluación del solapamiento entre CCI y CHC se estudió mediante método de GSEA. GISTIC se usó para la identificación de ganancias y pérdidas cromosómicas. Los pacientes incluidos eran mayoritariamente hombres caucásicos (54%, 61/113), con una edad mediana de 62 años y mediana de seguimiento de 27 meses. El 79% estaba en estadio pTNM I-II. El tamaño mediano de los tumores era de 6 cm (25-75%: 4-9), el 18% (20/113) presentaba tumores multinodulares y el 26% (29/113) tenía satélites. Las correlaciones clínicas se evaluaron utilizando curvas Kaplan-Meier y regresión de Cox.

Resultados: El análisis no supervisado identificó la presencia de dos clases moleculares: inflamación (57/149, 38%) y proliferación (92/149, 62%). La clase de Inflamación estaba asociada con múltiples vías inflamatorias, activación de STAT3 y sobreexpresión de interleuquinas. La clase de proliferación resultó enriquecida en múltiples vías oncogénicas [e.g., RAS/ERK, MET, PDGF, VEGF] y en firmas genéticas de CHC de mal pronóstico. Además, se identificaron mutaciones en oncogenes como RAS (8%) y BRAF (4%) y ampliaciones de alto grado (> 4 copias) en el cromosoma 1p13 (9%), 1p31 (6%) y 11q13.2 (4%), donde están situados genes como CCND1 y ORAOV1, significativamente asociados a la clase de proliferación. El GISTIC identificó como alteraciones más significativas las ganancias de cromosoma 1q (32%) y 7p (25%) y pérdidas del 6q (52%), si diferencias entre las dos clases. La clase de Proliferación presentaba recurrencia precoz comparada con la clase de Inflamación (tiempo mediano de 15 vs 37 meses, respectivamente [HR, 1,81, IC95%, 1,01-3,23, p = 0,04]).

Conclusiones: El análisis genómico integral identificó 2 clases de CCI. La clase de proliferación representa el 60% de los casos, tiene peor pronóstico y se caracteriza por activación de vías de señalización de RAS, MET y presenta mayor número de mutaciones y alte-

raciones cromosómicas de oncogenes, así como de firmas genéticas de mal pronóstico.

P-92. LA DEFICIENCIA DE LA ESFINGOMIELINASA ÁCIDA PROMUEVE LA FIBROGENESIS HEPÁTICA EN LA ENFERMEDAD DE NIEMANN PICK DEBIDO A LA SOBREATIVACIÓN DE LA CATEPSINA B

N. Tarrats, A. Moles, J.C. Fernández-Checa y M. Mari

Instituto de Investigaciones Biomédicas. CSIC-IDIBAPS. CIBERhd. Barcelona. España.

Introducción: La enfermedad de Niemann Pick (NPD) es un trastorno causado por la pérdida de función de la esfingomielinasa ácida (ASMase) y que se caracteriza por la acumulación de lípidos en los lisosomas y que cursa con neurodegeneración y enfermedad hepática. Puesto que los ratones deficientes en ASMase (ASMase KO) exhiben muchos de los síntomas de NPD, y que resultados previos muestran que la ASMase controla la activación de las catepsinas B/D (CtsB/D) lisosomales (Moles et al. *Hepatology*, 2009; *Am J Pathol*, 2010), nuestro objetivo fue investigar la expresión y procesamiento de las CtsB/D en las células estrelladas hepáticas (CEH) en ausencia de ASMase funcional, y su papel en la fibrosis hepática en ratones ASMase KO.

Métodos: Estudios *in vitro* de activación de CEH procedentes de ratones wt y ASMase KO. El activación proteolítica de CtsB/D se determinó mediante inmunoblotting, y la activación de CEH mediante expresión de marcadores específicos (α -SMA, TGF- β y Col1A1). El grado de fibrosis *in vivo* se examinó tras tratamiento con CCl₄ durante 4 semanas en ratones wt y ASMase KO con o sin inhibición de la CtsB *in vivo* con CaO74Me.

Resultados: Aunque la pérdida parcial de ASMase conduce a una menor activación de CtsB/D, sorprendentemente, las CEH procedentes de ratones ASMase KO muestran un mayor nivel de expresión basal y una actividad elevada de CtsB/D, así como un mayor procesamiento *in vitro*, acorde con un aumento en la expresión de marcadores fibrogénicos como α -SMA (actina de músculo liso), TGF- β , y Col1A1 (pro-colágeno- α 1(I)). La inhibición farmacológica de la CtsB disminuyó la expresión de α -SMA, Col1A1 y la proliferación de las CEH procedentes de ratones ASMase KO. La fibrosis hepática inducida por administración crónica de CCl₄ *in vivo* aumentó (3-4 veces) en ratones ASMase KO respecto a ratones controles según niveles de hidroxiprolina y tinción con Sirius Red, efecto que se moderaba tras la inhibición de CtsB. Conjuntamente, a parte del hígado, el aumento de CtsB también era observado en cerebro y pulmón de los ratones ASMase KO, sugiriendo que la sobreexpresión de CtsB podría ser clave en el fenotipo de NPD.

Conclusiones: Estos resultados revelan una relación funcional entre ASMase y CtsB, puesto que la ablación de ASMase conduce a un aumento del procesamiento y activación de la CtsB. Por lo tanto, la CtsB podría ser una nueva diana terapéutica de relevancia para el tratamiento de la fibrosis hepática en pacientes con NPD.

P-93. LA PRODUCCIÓN INTRAHEPATOCITARIA DE ÓXIDO NÍTRICO (NO) ES ESENCIAL PARA EL MANTENIMIENTO HOMEOSTÁTICO DEL POOL DE SALES BILIARES (SBS)

C.M. Rodríguez Ortigosa^{a,b}, N. Juanarena^a, S. Arcelus^{a,b}, J.J. García Marín^{b,c,d} y J. Prieto^{a,b}

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

^bCIBERhd.

^cUniversidad de Salamanca.

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

Introducción: La infusión de SBs se asocia a un aumento en la producción hepática de NO y a una secreción biliar aumentada de GSNO (NO unido a glutatión) (Rodríguez-Ortigosa et al. *Hepatology*, 2010). Sin embargo el papel fisiológico que juega el NO en el metabolismo hepático de las SB no es conocido. La finalidad del presente estudio fue el estudiar si el NO era importante en el mantenimiento del pool de SBs.

Métodos: Se utilizaron ratas Wistar macho (aprox. 250 g peso) que se distribuyeron en cuatro grupos experimentales: Control, Colato, NAME y Colato+NAME (n = 5-8 animales/grupo). Los animales recibieron por vía oral 2 μ L/g peso corporal de suero fisiológico (grupos Control y NAME) o de colato sódico (0,4 mg/ μ L) (grupos Colato y Colato + NAME) durante 5 días, y una inyección intraperitoneal de 2 μ L/g peso corporal de suero fisiológico (Grupos Control y Colato) o del inhibidor de la síntesis de NO, L-NAME (50 μ g/g peso corporal) (grupos NAME y Colato + NAME), también durante 5 días. Los animales fueron luego sacrificados, recogiendo muestras de sangre e hígado. En tres animales de cada grupo, previamente al sacrificio, se canuló el conducto biliar común para recogida de bilis y estimación del flujo biliar. En suero se estudió la bioquímica hepática y en el tejido se analizó la expresión de genes implicados en el transporte y síntesis de SBs.

Resultados: En los animales tratados con colato en los que se había inhibido la síntesis de NO (grupo Colato + NAME) se observó una disminución significativa del tamaño del hígado unido a elevación de transaminasas, fosfatasa alcalina y bilirrubina y a un aumento del daño oxidativo hepático, lo que no se observó en los grupos que recibieron sólo colato o sólo L-NAME. Cuando se compararon los niveles de SBs en los distintos compartimentos en los animales tratados con colato y colato + NAME se vio que este último grupo presentaba valores significativamente elevados de SBs en suero, en tejido hepático y en bilis y ello se acompañaba de un importante aumento del flujo biliar. En este grupo se observó asimismo una significativa sobreexpresión del transportador sinusoidal Mrp3 y canalicular Mrp2 y una elevación de Ntcp (que media la captación basolateral de SBs) y de Bsep (mediador de la secreción canalicular de SBs). En los animales que recibieron colato tuvo lugar un aumento de SHP (el regulador negativo de la síntesis de SBs) y un descenso de Cyp7a1, enzima clave en la biosíntesis de SBs. Este control homeostático del pool se vio alterado en el grupo colato+NAME, en donde aumentó SHP pero no descendió Cyp7a1, permitiendo que la biosíntesis de SBs continuara activa a pesar de los suplementos de colato de la dieta.

Conclusiones: Nuestros resultados muestran que el NO, cuya producción es inducida en el hígado por las SBs, es fundamental para que éstas puedan controlar su propia biosíntesis y mantener estable el pool.

P-94. LA PROTEÍNA ASBT PODRÍA UTILIZARSE EN EL TRATAMIENTO DEL COLANGIOCARCINOMA COMO DIANA PARA LA VECTORIZACIÓN DE DERIVADOS CITOSTÁTICOS DE ÁCIDOS BILIARES

E. Lozano Esteban^a, M.J. Monte Río^{a,b}, S. Jiménez Cabrera^c, B. Castaño Rodríguez^c, F. Jiménez Vicente^{b,c}, F. González San Martín^{b,c}, J.J. García Marín^{a,b} y R.I. Rodríguez Macías^{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 (CIBERhd).

^cHospital Universitario de Salamanca. España.

Introducción: El colangiocarcinoma (CGC) es un tumor con elevada mortalidad debido, en parte, a la dificultad de realizar un diagnóstico precoz que posibilite su resección y a la falta de respuesta a los fármacos disponibles en la actualidad.

Objetivos: Investigar la expresión del cotransportador de sodio y ácidos biliares ASBT ("apical sodium-bile acid transporter"), propia de colangiocitos, en células de CGC y, por lo tanto, la posibilidad de utilizar derivados de ácidos biliares como lanzaderas para vectorizar fármacos citostáticos hacia estos tumores.

Métodos: Se utilizaron 2 líneas celulares comerciales de CGC humano (TFK-1 y HuH-28), y otras 2 de rata (REUSAL-C44 y REUSAL-C49) desarrolladas en nuestro laboratorio a partir de tumores inducidos químicamente por tratamiento prolongado con tioacetamida. Los niveles de expresión de los genes de interés se determinaron por RT-QPCR, WB e inmunofluorescencia. Se determinó la capacidad de las líneas celulares de captar [3H]-taurocolato y la sensibilidad a la actividad citostática de cisplatino y del derivado de ácido ursodesoxicólico y cisplatino Bamet-UD2, mediante el test de MTT tras 72h de exposición a concentraciones crecientes de estos compuestos.

Resultados: Las líneas celulares REUSAL-C44 y REUSAL-C49 se caracterizaron por la expresión de una combinación de marcadores propios de tumores de origen colangiolar (CK7, claudina, Neu y GSTpi) y la ausencia de marcadores de otras células hepáticas (Ntcp, albúmina y CD163). Respecto a los niveles de expresión en hígado sano, la abundancia de ARNm de ASBT fue elevada en las líneas TFK-1 ($\times 3$ veces) y REUSAL-C44 ($\times 2$ veces) y muy baja en las células Huh-28 y REUSAL-C49. Estos resultados concordaban con la capacidad de las distintas líneas celulares de captar [3H]-taurocolato y con su sensibilidad al efecto citostático del Bamet-UD2, pero no del cisplatino.

Conclusiones: El ASBT podría utilizarse como diana para la vectorización de derivados citostáticos de ácidos biliares en CGC con el objetivo de elevar los niveles intracelulares de fármaco en tumores que mantengan la expresión de este transportador.

P-95. EL FGF15 ES UNA HORMONA ESENCIAL PARA LA REGENERACIÓN HEPÁTICA

I. Uriarte^a, M.G. Fernández de Barrena^a, M.J. Monte^b, E. Vicente^c, C.M. Rodríguez Ortigosa^a, C. Berasain^c, J.J.G. Marín^b, J. Prieto^c y M.A. Ávila^c

^aCIBERehd. Pamplona. España.

^bCIBERehd. Universidad de Salamanca. España.

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

Introducción y objetivos: El FGF19 ("Fibroblast growth factor") 19 y su ortólogo en ratón Fgf15) es una enteroquina que se sintetiza en el íleon y es liberada a la circulación enterohepática tras la ingesta de alimentos en respuesta a las sales biliares. En el hígado el FGF19/Fgf15 se une a su receptor de membrana, el FGFR4, y reprime la síntesis de sales biliares mediante la inhibición transcripcional de la enzima principal y limitante en este proceso codificada por el gen CYP7A1. El FGF19/Fgf15 se ha implicado en el metabolismo de la glucosa, induciendo la síntesis de glucógeno hepático, y también parece jugar un papel importante en la síntesis proteica. Por otra parte las sales biliares han sido reconocidas recientemente como importantes reguladores de la regeneración hepática. Siendo el FGF19/Fgf15 un modulador importante de su metabolismo, en este estudio hemos evaluado directamente el posible papel desempeñado por esta hormona en el proceso de la regeneración hepática.

Métodos: Ratones control (WT) y ratones en los que el gen Fgf15 ha sido delecionado (Fgf15KO) fueron sometidos a una hepatectomía parcial del 70% (HP) como modelo de regeneración hepática. Se estudió la supervivencia así como el perfil de expresión génica, fenotipo y otros parámetros implicados en proliferación hepática y en el metabolismo y transporte de los ácidos biliares durante la regeneración. Se evaluó también la respuesta regenerativa y la su-

pervivencia tras la HP de estos ratones alimentados con una dieta suplementada con el agente secuestrador de ácidos biliares colestiramina.

Resultados: Los ratones Fgf15KO presentaron niveles basales elevados del RNA mensajero de Cyp7a1. Los niveles séricos e intra-hepáticos de sales biliares, tanto basales como durante la regeneración, también fueron elevados en estos animales. Se apreció una alta mortalidad en estos ratones entre las 36 y 48h tras la hepatectomía (80% vs 5% en WT), con niveles de transaminasas circulantes elevadas pero sin alteración de la recuperación del peso del hígado remanente en aquellos animales que sobrevivieron. No se observaron diferencias significativas en la expresión de genes y marcadores relacionados con la proliferación (ciclinas, PCNA, Ki67), ni en la síntesis proteica (fosforilación de la proteína S6). La administración de una dieta suplementada con colestiramina previno completamente la muerte de los ratones Fgf15KO tras la HP.

Conclusiones: El Fgf15 es necesario para la supervivencia del ratón durante la regeneración hepática. Nuestros datos sugieren que la alta mortalidad de los ratones Fgf15KO tras hepatectomía parcial no se debería a una activación deficiente de la respuesta regenerativa (señales activadoras de la proliferación hepatocelular), sino a un fallo hepático debido a las altas concentraciones, posiblemente tóxicas, de las sales biliares intrahepáticas. Además de ser un factor clave en la regulación de los niveles de sales biliares en condiciones basales y durante la regeneración hepática, el Fgf15 podría ser también un factor de supervivencia para el parénquima hepático durante las primeras etapas de la respuesta regenerativa del hígado.

P-96. LA LEPTINA INDUCE ESTRÉS OXIDATIVO Y LA EXPRESIÓN GENÉTICA DEL COLÁGENO POR MEDIACIÓN DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN SP1 Y SP3

J.A. Solís-Herruzo^a, E. Gómez-Izquierdo^a, T. Díaz-Sanjuán^a, P. Solís-Muñoz^b, 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.

Introducción: La leptina es un péptido que estimula la fibrogenesis hepática, aunque los mecanismos de este efecto son poco conocidos. Los objetivos del presente estudio fueron: (1) conocer los factores de transcripción implicados en este efecto, (2) identificar los elementos en el promotor sobre los que actúa, (3) determinar el papel del estrés oxidativo en la mediación del efecto profibrogénico de la leptina.

Métodos: Todos los estudios fueron realizados en cultivos primarios de células estrelladas del hígado (CEH) aisladas del hígado de ratas Sprague-Dawley. Determinamos los efectos de la leptina sobre (a) la expresión genética del colágeno- $\alpha 1(I)$ (Col1a1) (RT-PCR, Northern Blot), (b) actividad cloranfenicol acetil-transferasa en células transfectadas con plásmidos controlados por diversas regiones del promotor del Col1a1, (c) unión de factores de transcripción al promotor del Col1a1 (EMSA), (d) estrés oxidativo (glutatión reducido; sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico), (e) inhibición de los efectos de la leptina con antioxidantes (MnTBAP; melatonina; azul de metileno), inhibidores de la NADPH oxidasa (apocinina; difenil-yodinio), inhibidores de la formación de complejos proteínas-aldehídos (5-piridoxalfosfato; p-hidroximercuribenzoato = pHMB), inhibidores de las quinasas ERK1/2 (PD098059 = PD), p38 (SB203580 = SB), JNK (SP600125 = SP), PI3K (wortmanina) y de Sp1 (mitramicina).

Resultados: (1) La leptina aumenta la expresión genética del Col1a1 en cultivos primarios de CEH. (2) Este efecto lo realiza actuando sobre la región del promotor situado entre las secuencias

-161 y -112 pb antes del inicio de la transcripción. (3) La leptina induce la fosforilación de Sp1 y la unión de Sp1 y Sp3 a esa región. (4) Los efectos de la leptina desaparecen con la mitramicina (anti-Sp1). (5) La leptina produce estrés oxidativo que participa en el estímulo del gen de Col1a1, ya que este efecto es anulado con el empleo de antioxidantes, inhibidores de la NADPH oxidasa o de la formación de complejos proteínas-aldehídos.

Conclusiones: La leptina estimula la expresión genética del colágeno- $\alpha 1(I)$ mediante los factores de transcripción Sp1 y Sp3 que se unen a la región entre -161 y -112 pb del promotor del Col1a1. Este efecto está mediado por la NADPH oxidasa, el estrés oxidativo, la formación de complejos proteínas-aldehídos y la activación de las MAPK que fosforilan Sp1.

P-97. PROPERTIES AND LIMITATIONS OF MONOCYTES AND CANCER CELLS AS CARRIERS FOR REPLICATION-COMPETENT ADENOVIRAL VECTORS IN LIVER METASTASES OF PANCREATIC CANCER

E. García-Aragoncillo^a, M. Bunuales^a, R. Casado^a, S. Bortolanza^a, J. Prieto^{a,b} y R. Hernández-Alcoceba^a

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

Oncolytic adenoviruses (OAV) are promising agents for the treatment of cancer, but their clinical efficacy is hampered by a diversity of factors, including the poor biodistribution in solid tumors and the rapid appearance of neutralizing antibodies (NABs) against adenovirus. The use of carrier cells can overcome some of these limitations. An important feature of such cells is to shield the adenovirus from NABs in the circulation and allow efficient re-administration over an extended period of time. In the present work we have compared monocytes and cancer cells as carriers for OAV, using a replication-competent adenovirus expressing the luciferase reporter gene (Ad-WTLuc). Experiments performed in athymic nude mice carrying subcutaneous human cancer xenografts indicated that monocytes (from either human or hamster origin) were able to increase the access of Ad-WTLuc to the tumors upon intravenous administration. In vivo bioluminescence detection revealed that up to 15% of the luciferase signal can be detected in the tumors, in contrast with the almost exclusive hepatic localization observed with the free virus. However, when a parallel experiment was performed in immune-competent hamsters carrying liver metastases of pancreatic cancer, systemic administration of infected monocytes caused no significant tumor transduction. In contrast, intratumoral administration of hamster monocytes loaded ex-vivo with Ad-WTLuc allowed repeated cycles of local transgene expression, and achieved partial protection from NABs. Similar properties were observed when irradiated cancer cells were used as carriers. These results suggest that lethally irradiated cancer cells infected ex-vivo with OAVs expressing therapeutic genes could be efficient tools for immunotherapy, with dual roles as cancer vaccines and carrier cells.

P-98. EFECTO DE LOS HAPLOTIPOS DEL GEN ABCC2 EN LA SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR TOXICIDAD HEPÁTICA IDIOSINCRÁSICA INDUCIDA POR FÁRMACOS (DILI)

R.J. Andrade^{a,b}, E. Ulzurrun^{a,c}, P. Sáenz-López^{d,e}, C. Stephens^{a,c}, F. Ruiz-Cabello^{d,e}, Y. Borraz^{a,c}, M. Robles^{a,b}, M.R. Cabello^{a,c}, G. Peláez^f, M. Romero-Gómez^{a,g}, H. Hallal^h, J.M. Moreno-Planasⁱ, C. Guarner^{a,j}, A. Castiella^k y M.I. Lucena^{a,c}

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

^bUnidad de Hepatología; ^cServicio de Farmacología Clínica. Hospital Virgen de la Victoria. Facultad de Medicina. Málaga. España.

^dRed Genómica del Cáncer. España.

^eServicio de Análisis Clínicos. Laboratorio de Inmunología. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. España.

^fServicio de Farmacología Clínica y Aparato Digestivo. Hospital Torrecárdenas. Almería. España.

^gUnidad de Hepatología. Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. España.

^hUnidad de Hepatología. Hospital Morales Meseguer. Murcia. España.

ⁱServicio de Aparato Digestivo. Hospital de Albacete. España.

^jUnidad de Hepatología. Hospital Sant Pau. Barcelona. España.

^kServicio de Aparato Digestivo. Hospital de Mendaro. Guipúzcoa. España.

Introducción: La proteína resistente a multifármacos (MRP2, ABCC2) juega un papel importante en la eliminación biliar de una amplia variedad de compuestos endógenos y de fármacos. Por ello, variaciones en el gen ABCC2 podrían condicionar una disminución en el aclaramiento de los fármacos o metabolitos y facilitar su acumulación hepática.

Objetivos: Analizar las variantes genotípicas en cuatro polimorfismos en el gen ABCC2 en pacientes que han desarrollado un episodio de hepatotoxicidad.

Métodos: Se genotiparon los polimorfismos ABCC2 -1548G > A, -24C > T, 1249G > A y 4588G > A en 94 pacientes DILI y 162 donantes de médula ósea como grupo control mediante el ensayo de discriminación alélica 5' con sondas TaqMan. Los haplotipos y las asociaciones genéticas se realizaron con el programa Haploview 4.2 y el test exacto de Fisher, respectivamente.

Resultados: No se encontraron diferencias entre pacientes DILI y controles en los polimorfismos analizados individualmente los cuales están en equilibrio de Hardy-Weinberg. Se observó un fuerte desequilibrio de unión entre los loci -1549G > A y 1249G > A ($D' = 0,97$), -1549G > A y -24C > T ($D' = 0,90$) y -1549G > A y 4581G > A ($D' = 0,83$). Las frecuencias de los haplotipos en los loci -1549/-24/1249/4581 fueron: GCGG (27,8%), ATGG (26%), ACGG (19,2%), GCAG (18%), ACGA (6,7%) y GTGG (1,4%). Únicamente el haplotipo GTGG mostró diferencias estadísticamente significativas entre pacientes DILI y controles ($p = 0,028$). Sin embargo, la frecuencia esperada fue inferior al 5%, por lo que los resultados son de escasa relevancia. Igualmente, el haplotipo -1549G/-24T fue significativamente más frecuente en pacientes con un daño colestásico/mixto ($p = 0,042$), aunque la frecuencia esperada fue de nuevo inferior al 5%.

Conclusiones: Nuestros datos no sugieren que los polimorfismos -1548G > A, -24C > T, 1249G > A y 4588G > A en el gen ABCC2 jueguen un papel relevante en el desarrollo de hepatotoxicidad en población española.

Parcialmente financiado por Agencia Española del Medicamento, FIS09/01384 y SAS CTS-6470. CIBERehd y Red Genómica del cáncer por el ISCIII.

P-99. INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE ENFERMEDAD HEPÁTICA INDUCIDA POR RADIOEMBOLIZACIÓN (RE): RESULTADOS DE UNA ESTRATEGIA GLOBAL DE DISEÑO TERAPÉUTICO Y CÁLCULO DE ACTIVIDAD

B. Gil-Alzugaray^a, M. Iñarrairaegui^{a,b}, A. Benito^c, D. d'Avola^{a,b}, M. Rodríguez^d, J.I. Bilbao^c, I. Herrero^{a,b}, J. Quiroga^{a,b}, J. Prieto^{a,b} y B. Sangro^{a,b}

^aUnidad de Hepatología; ^cRadiología; ^dServicio de Medicina Nuclear. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.
^bCIBERehd.

Introducción: La EHIRE se ha definido en pacientes (pts) no cirróticos como ascitis + ictericia que aparecen 1-2 meses tras RE en ausencia de progresión tumoral.

Objetivos: Estudiar la incidencia y severidad de la EHIRE y el impacto de una estrategia enfocada a minimizar su aparición y efectos.

Métodos: Análisis retrospectivo de todos los pts tratados entre 09/2003 y 01/2010, con seguimiento > 2 meses. Desde 09/2006 se adoptaron medidas de prevención de EHIRE que incluyen la adaptación del tratamiento a las condiciones del pte (menor intensidad en pts con alta exposición a quimioterapia (QTP), cirrosis o volumen hepático y/o tumoral reducidos; y mayor en RE más selectivas con intención radical) y el tratamiento con ácido ursodeoxicólico (600 mg/día) durante los 2 meses posteriores a la RE (tratamiento personalizado). La intensidad del daño se ha evaluado mediante la escala CTC v.3. Se han aplicado las pruebas estadísticas habituales.

Resultados: Analizados 213 pts, el 57% con tumores secundarios, 32% cirróticos, 47% expuestos a QTP antes y 23% en los dos meses post-RE, 53% con tratamiento bilobar. La tabla ilustra cómo tanto la incidencia como la severidad de la EHIRE se redujeron en el 64% de los pts que recibieron tratamiento personalizado. Los factores relacionados con la aparición de EHIRE en el análisis multivariado fueron: a) para la RE bilobar, cirrosis (OR 14,68), haber recibido > 0,8 GBq/L de volumen tratado (OR 0,21) y haber recibido QTP tras RE (OR 4,69); y b) para la RE selectiva, la bilirrubina basal superior a 1,8 mg/dl (OR 24,69). Cuando el modelo se ajustó por tipo de tratamiento solo la QTP post-RE mantuvo significación estadística.

Conclusiones: Cirrosis, exposición a QTP pre- y post-RE y mayor extensión e intensidad del tratamiento determinan mayor riesgo de EHIRE. Con el tratamiento personalizado el riesgo de EHIRE se limita fundamentalmente a pts con tratamiento bilobar que han recibido QTP previa, y rara vez es grave.

P-100. EL TRATAMIENTO CON GLUCOCORTICOIDES MODIFICA LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN MEDIADA POR FXR EN EL HÍGADO Y ALTERA LA HOMEOSTASIS DE LOS ÁCIDOS BILIARES

R. Rosales^a, M.R. Romero^{a,b}, J. Vaquero^a, M.J. Monte^{a,b}, P. Requena^c, O. Martínez-Augustín^{b,c}, F. Sánchez de Medina^{b,d} y J.J.G. Marín^{a,b}

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

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

^cDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular II;

^dDepartamento de Farmacología. Universidad de Granada. España.

Introducción: Los glucocorticoides tienen amplios usos en clínica aunque su eficacia farmacológica en el tratamiento a largo plazo está limitada por sus efectos secundarios adversos. Nuestro grupo de investigación ha encontrado indicios de que entre las acciones fisiológicas y farmacológicas de los glucocorticoides podrían incluirse modificaciones que afectan a la homeostasis de los ácidos biliares.

Objetivos: Evaluar los efectos in vitro e in vivo del tratamiento con glucocorticoides sobre la vía de señalización mediada por el receptor nuclear FXR ("Farnesoid X Receptor") y la expresión de genes implicados en la síntesis y circulación enterohepática de ácidos biliares.

Métodos y resultados: Se estudió el efecto de tres glucocorticoides (dexametasona, budesonida y prednisolona) administrados durante 4 días (i.p., 50 mg/Kg/día) a ratas Wistar. Utilizando RT-QPCR y WB se determinó que este tratamiento, sobre todo con dexametasona, disminuía (-40%) la expresión de Fxr, así como de transportadores [Ntcp, (-42%), Mrp4 (-33%) y Bcrp (-90%)], enzimas [Cyp7a1 (-50%) y Baat (-32%)], y receptores nucleares [GR (-40%) y Shp (-85%)], mientras que aumentaba la de otros transportadores [Bsep (+70%) y Mrp2 (+64%)], la enzima Cyp27a1 (+53%) y el receptor nuclear Lrh-1 (+65%). El análisis por HPLC-MS/MS reveló que estos cambios se acompañaban de un incremento de los niveles de ácidos biliares totales y de la proporción de tauroconjugados en suero, sin que se detectasen cambios en la bilis o en el tejido hepático. El estudio de células de hepatoblastoma humano HepG2 incubadas con dexametasona o prednisolona (20 µM durante 24 h), reveló que los glucocorticoides reducían la expresión de FXR (-50%) así como de SHP (-23%), OSTb (-37%) y BCRP (-22%), mientras que aumentaba la expresión de BSEP (> 400%), CYP7A1 (> 60%) y BAAT (> 50%). La incubación con GW4064, un agonista de FXR (1 µM durante 24 h)

		Tratamiento			
		Estándar (n = 75)		Personalizado (n = 138)	
Subgrupo		Total	Grado ≥ 3	Total	Grado ≥ 3
Lobar o sublobar		2/24 (8,3%)	1	3/75 (4,0%)	2
No QTP previa	No cirrosis	0/9		0/15	
	Cirrosis	2/13 (15,4%)	1	3/39 (7,7%)	2
QTP previa	No cirrosis	0/5		0/18	
	Cirrosis	-		-	
Bilobar		15/51 (29,4%)	11	4/63 (6,3%)	1
No QTP previa	No cirrosis	1/7 (14,3%)	1	0/16	0
	Cirrosis	3/9 (33,0%)	2	0/5	0
QTP previa	No cirrosis	9/30 (30,0%)	6	3/44 (6,8%)	1
	Cirrosis	2/2 (100%)	2	1/1 (100%)	0

redujo los niveles de expresión de MRP2 (-20%), BCRP (-25%), CYP7A1 (-82%) y BAAT (-28%), e incrementó los de SHP (+72%), OSTa (+1800%) y OSTb (+1500%). La incorporación de glucocorticoides al medio de cultivo bloqueó parcialmente los efectos del GW4064. En células de hepatoma humano Alexander, que no expresan FXR endógeno, la transfección con FXR tuvo como consecuencia que tanto el GW4064 como la prednisolona fuesen capaces de estimular de forma muy considerable la expresión de BSEP (+1.000%). Mientras que el GW4064 estimuló la expresión de SHP (+60%) y OSTb (+25%) los glucocorticoides presentaron un efecto antagonista reduciendo los niveles de SHP (-80%) y OSTb (-75%).

Conclusiones: El tratamiento con glucocorticoides reduce la expresión hepática de FXR/Fxr y modifica su vía de señalización afectando a la expresión de enzimas claves en la síntesis y conjugación de ácidos biliares, así como a proteínas transportadoras, lo que determina cambios en la homeostasis de los ácidos biliares.

P-101. PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS Y ENDOTELIALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA HEPATITIS AGUDA

E. Solanas^a, F.J. Aranguren^a, S. Lorente^a, J.A. Moreno^a, M.A. de Gregorio^a, J. Medrano^a, J.C. Segovia^b, O. Bernal^a y T. Serrano^a

^aHospital Clínico de Zaragoza. España.

^bCIEMAT. Barcelona. España.

Introducción: Trabajos recientes demuestran el papel que las células progenitoras hematopoyéticas, y más concretamente endoteliales, ejercen en la reparación de múltiples tejidos incluido el tejido hepático. Determinados factores como el HGF, VEGF y la MMP-9, parecen desempeñar un papel crucial en este proceso. Nuestro objetivo es estudiar este fenómeno en la hepatitis aguda en el humano.

Métodos: Estudio de cohorte con recogida de datos prospectiva. Se han incluido 17 pacientes con hepatitis aguda, 10 con cirrosis hepática descompensada y 10 individuos control. La presencia de células progenitoras ha sido evaluada, en sangre periférica, mediante citometría de flujo (CD34, CD133, c-Kit, VEGF-R2, CXCR-4) y las concentraciones de citoquinas y factores implicados en el proceso (HGF, VEGF y MMP-9) mediante tecnología luminex y ELISA.

Resultados: En los pacientes con hepatitis aguda se produce un incremento significativo ($p < 0,05$) de progenitores hematopoyéticos (CD34+) ($0,1 \pm 0,01\%$) y precursores endoteliales (VEGF-R2+) ($0,067 \pm 0,01\%$) con respecto a los pacientes con hepatopatía crónica ($0,03 \pm 0,005\%$ y $0,02 \pm 0,004\%$) y el grupo control ($0,028 \pm 0,005\%$ y $0,017 \pm 0,005\%$). Este fenómeno se acompaña de un aumento importante en los niveles séricos de HGF (6.783 ± 1.758 pg/ml) y de VEGF (933 ± 291 pg/ml). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al compararse tanto con los pacientes cirróticos (2.657 ± 470 pg/ml; 246 ± 136 pg/ml) como con el grupo control (966 ± 103 pg/ml; $135,8 \pm 50$ pg/ml). Así mismo se detectó un descenso de los niveles de MMP-9 ($375,1 \pm 64$ ng/ml) significativamente diferentes del grupo control ($668,7 \pm 102$ ng/ml). En lo que respecta al HGF existe un importante gradiente hepático, ya que los niveles medios detectados en las venas suprahepáticas son significativamente mayores que los detectados en sangre periférica (26.509 ± 13.600 pg/ml). Además este factor se correlaciona con el tiempo de protrombina ($r = -0,39$) y el MELD ($r = 0,45$), $p < 0,05$ en los pacientes con hepatitis aguda.

Conclusiones: Los pacientes con hepatitis aguda presentan un incremento de células troncales hematopoyéticas y endoteliales que, junto al incremento de factores como HGF y VEG, podría indicar la importancia de estos precursores en la reparación de la lesión hepática aguda. Además el HGF se relaciona con factores que indican gravedad en la hepatitis aguda

P-102. COMPARACIÓN DE DOS SONDAS DE ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN EN LA MEDICIÓN DE LA RIGIDEZ HEPÁTICA

J.I. Herrero Santos, M. Iñarrairaegui, D. d'Avola, B. Sangro, J. Prieto y J. Quiroga

CIBERehd. Unidad de Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La elastografía es un método no invasivo de medición de la rigidez hepática, cuya principal limitación es su dificultad de uso en pacientes obesos. Una nueva sonda (XL) está disponible para su uso en obesos, pero sus resultados no han sido comparados con los de la sonda M.

Métodos: Se realizó una elastografía con las sondas M y XL a 254 pacientes. Se comparó la proporción de pruebas fiables (más de 60% de mediciones válidas y rango intercuartílico menor del 30% del valor de la mediana) y la proporción de las pruebas que no lo fueron porque no se cumplieron los supuestos anteriores. Además, se comparó el valor de la rigidez hepática y el porcentaje de mediciones válidas obtenido con cada sonda en cada paciente. Se hicieron análisis en el grupo de 254 pacientes y en dos subgrupos de pacientes con índice de masa corporal (IMC) mayor o menor de 30 kg/m².

Resultados: Los porcentajes respectivos de pruebas fiables, pruebas con $< 60\%$ de mediciones válidas y pruebas con rango intercuartílico $> 30\%$ (sonda M vs sonda XL) fueron: 73% vs 83% ($p = 0,01$), 19% vs 2% ($p < 0,001$) y 11% vs 16% ($p = NS$). En el grupo con IMC < 30 kg/m² no hubo diferencias en el número de pruebas fiables (M: 83% vs XL: 84%), ya que con la sonda M hubo más casos con $< 60\%$ de mediciones válidas (10% vs 2%; $p = 0,002$), pero en el grupo XL hubo más casos con rango intercuartílico $> 30\%$ (14% vs 8%; $p = NS$). En los pacientes con IMC > 30 kg/m² la fiabilidad fue mayor con la sonda XL (82% vs 55%; $p < 0,001$), a expensas de una menor proporción de casos con $< 60\%$ de mediciones válidas (3% vs 35%; $p < 0,001$). En las pruebas válidas, los valores de rigidez hepática fueron significativamente mayores con la sonda M que con la sonda XL, tanto en el grupo global (11,3 vs 9,5 kPa; $p < 0,001$) como en los grupos con IMC > 0 o < 30 kg/m². El porcentaje de mediciones válidas en cada prueba fue significativamente mayor con la sonda XL.

Conclusiones: La elastografía con sonda XL permite una mayor proporción de exploraciones fiables, gracias a una mayor proporción de mediciones válidas, pero con una mayor dispersión de las medidas en los pacientes no obesos. La rigidez hepática medida con sonda XL es significativamente menor que con la sonda M.

P-103. VALORACIÓN PROSPECTIVA DE LA UTILIDAD DE LA SONDA XL FRENTE A LA M EN LA MEDICIÓN DE LA RIGIDEZ HEPÁTICA

F. García Pajares, C. Almohalla Álvarez, S. Lorenzo Pelayo, M.T. Herranz Bachiller, A.L. Vargas García, I. Peñas Herrero, M.A. Vallecillo Sande y G. Sánchez Antolín

Unidad de Hepatología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. España.

Introducción: La elastografía hepática transitoria (FibroScan), es un método simple y no invasivo para evaluar la fibrosis hepática midiendo la rigidez hepática en kilopascales (kPa). Un índice de masa corporal (IMC) superior a 25 se asocia con menor tasa de éxito en la prueba. Una nueva Sonda (XL) ha sido diseñada específicamente para los pacientes con sobrepeso y obesos, dado que consigue lanzar la onda a una profundidad mayor desde la superficie de la piel, obviando la zona de tejido graso. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de la medición de la rigidez hepática cuando se utiliza la sonda XL en pacientes con IMC superior a 25 Kg/m², en comparación con la sonda M.

Métodos: Estudiamos prospectivamente 37 pacientes, a los que se realizó simultáneamente FibroScan con la sonda M y XL. La localización hepática y la distancia piel-cápsula hepática fueron evaluados antes de cada examen utilizando un ecógrafo. Además se recogieron el IMC, las circunferencias torácica y de cintura, el sexo y la edad de los pacientes. El análisis estadístico se realizó mediante prueba t pareada para variables cuantitativas y el test de χ^2 para las variables categóricas.

Resultados: Se incluyeron 37 pacientes (20 hombres y 15 mujeres), de edad media 52,08 años, e IMC $32,41 \pm 5,78$. La tasa de éxito media en el grupo de pacientes fue 56,75% con la sonda M frente a 91,8% con la sonda XL respectivamente ($p < 0,001$). Se consiguió un resultado válido con la sonda XL, en el 81,2% de los pacientes en los que la sonda M no lo consiguió. La duración de la prueba fue superior con la sonda M que con la XL ($p < 0,001$). El índice de correlación de rigidez entre ambas sondas (M y XL) en el mismo paciente fue 0,98. La tasa de éxito con la sonda M y XL se asoció con la circunferencia torácica y de cintura, y con la distancia piel-cápsula ($p < 0,05$).

Conclusiones: El FibroScan consigue medir la rigidez hepática con éxito en un porcentaje muy alto de pacientes. La sonda XL consigue aumentar significativamente la tasa de éxito sobre la sonda M, en los pacientes con sobrepeso y obesos. La rigidez hepática tiene una buena correlación entre ambas sondas. La duración de la exploración es mayor con la sonda M. El fallo del test con la sonda M se asoció a la circunferencia torácica, de cintura y la distancia piel-cápsula hepática. La sonda XL mejora la tasa de éxito del FibroScan en pacientes con elevado IMC.

P-104. ANÁLISIS DE LA VALIDEZ DEL USO DE LA AST EN LA DETERMINACIÓN DEL PATRÓN EN EL DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO POR FÁRMACOS (DILI)

M. Robles Díaz^{a,b,c}, M. García Cortés^{a,b,c}, A. Fernández Castañer^c, Y. Borraz^{a,d}, E. Ulzurum^{a,d}, C. Stephens^{a,d}, M. Lucena^{a,d,e} y R. Andrade Bellido^{a,b,c}

^aCIBERehd.

^bDepartamento de Medicina; ^cDepartamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Málaga. España.

^dServicio de Aparato Digestivo; ^eServicio de Farmacología. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. España.

Introducción y objetivos: Los valores de alanino aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) al inicio de la enfermedad son usados para determinar el patrón de DILI, mediante la fórmula $[R = (ALT/LSN)/(FA/LSN)]$. Un reciente consenso (Aithal et al. Clin Pharmacol Ther, 2011) recomienda el uso de los niveles de aspartato aminotransferasa (AST) cuando a ALT no está disponible. Nuestro objetivo es analizar la validez del uso de la AST en lugar de la ALT para calcular la R ratio en DILI.

Métodos: La población de estudio consiste en 588 pacientes incluidos en el Spanish DILI Registry con DILI idiosincrático y que cumplen los criterios internacionales de consenso de DILI. Edad, sexo, IMC, diabetes, hiperlipidemia, consumo de alcohol y fármaco imputado fueron identificados como cofactores y su potencial influencia en la validez de esta nueva ratio ha sido evaluada.

Resultados: Se ha observado una alta correlación lineal entre la ratio $(ALT/LSN)/(FA/LSN)$ y $(AST/LSN)/(FA/LSN)$ con un 76% de coincidencias entre ratios. El grado de acuerdo fue del 96% para el tipo hepatocelular, 61,4% para el colestático y 41% para el mixto ($p = 0,001$). No se encontraron diferencias en el grado de acierto en función de las características demográficas ni las enfermedades de base analizadas. La coincidencia entre ratios osciló del 87% al 95% con los antiulcerosos, antituberculosos, antiepilépticos, hierbas, flutamida, "otros antibacterianos", y antineoplásicos e inmunomo-

duladores, mientras que con la amoxicilina-clavulánico, ibuprofeno y ARA II fue mucho peor (48%-58%) ($p = 0,001$).

Conclusiones: El uso de la AST para determinar el patrón de DILI es fiable, especialmente cuando el patrón resultante es hepatocelular, así, la nueva ratio con AST identifica el patrón correctamente en un alto porcentaje de casos de DILI por fármacos que inducen típicamente daño hepatocelular (flutamida, antituberculosos). Edad, sexo, IMC, diabetes, dislipemia y consumo de alcohol no influyen en la validez de la ratio con AST.

P-105. EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES DE ENDOCANNABINOIDES EN TEJIDO HEPÁTICO Y CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH Y COINFECTADOS POR EL VHC

G. Òdena^{a,b}, R. Bartolá^{a,b}, S. Vanegas^c, A. Jou^c, S. Videla^c, R. Sanmartín^d, R. Morillas^{a,b}, B. Clotet^{c,d,e}, R. Planas^{a,b} y C. Tural^{c,e}

^aCIBERehd.

^bServicio del Aparato Digestivo. Fundación Instituto en Ciencias de la Salut Germans Trias i Pujol (IGTP). Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España. ^cFundació de la Lluita contra la SIDA. España.

^dServicio de Medicina Interna. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

^eInstitut de Recerca de la SIDA. IRSICaixa. Barcelona. España.

Introducción: Se ha demostrado asociación en la sobreexpresión de receptores de endocannabinoides (RCB1 y RCB2) en tejido hepático (TH) con el estadio de fibrosis hepática (FH) en pacientes con hepatitis crónica. Se desconoce la asociación de RCB1 y RCB2 con el estadio de FH y con otras variables relacionadas con la progresión de la FH en pacientes VIH+ coinfectados por VHC. El TH es el mejor sustrato para evaluar la asociación de RCB1 y RCB2 y la FH, pero se desconoce si existe correlación entre la expresión de estos receptores en TH y células mononucleares.

Objetivos: Evaluar 1) asociación entre expresión de RCB1 y RCB2 en TH y diversas variables clínicas, 2) concordancia en la expresión de estos receptores entre TH y células mononucleares, 3) presencia de inhibidores del enzima de degradación de endocannabinoides, FAAH, en plasma.

Métodos: De forma retrospectiva, se incluyeron 21 muestras de células mononucleares y plasma y 13 biopsias hepáticas de pacientes coinfectados VIH/VHC de los que se disponía de analítica completa y estadiaje de fibrosis. Se cuantificó la expresión de RCB1 y RCB2 de células mononucleares y TH por western-blot. Se cuantificó la presencia de inhibidores de FAAH en plasma mediante kit comercial de actividad enzimática.

Resultados: No se observó correlación en la expresión de RCB1 y/o RCB2 entre TH y células mononucleares, ni tampoco entre la expresión de los receptores y el grado de fibrosis. Se observó asociación independiente entre la expresión de RCB1 en células mononucleares y recuento de CD4 nadir y tratamiento con inhibidores de proteasas. Se observó correlación entre la expresión de RCB1 en TH y concentración de glucosa ($r = 0,85$, $p = 0,001$), el porcentaje de CD8 ($r = 0,62$, $p = 0,042$) y la carga viral del VIH ($p = 0,01$). El análisis multivariante mostró asociación independiente para glucosa y carga viral. Solo 3 casos presentaron inhibición de FAAH, presentando mayor expresión de RCB1 y menor albúmina sérica.

Conclusiones: La expresión del receptor profibrogénico RCB1 está aumentada en pacientes coinfectados VIH/VHC con mayor carga viral del VIH. Esto podría explicar, en parte, la progresión más rápida de la cirrosis en estos pacientes coinfectados. Por otro lado, no se observa correlación de RCB1 y/o RCB2 entre TH y células mononucleares.

P-106. UTILIDAD DE LA ELASTOGRAFÍA EN TIEMPO REAL EN LA EVALUACIÓN NO INVASIVA DE LA FIBROSIS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VHC

A. Díaz, J. Crespo del Pozo, F.J. González, R. Pellón, J. Cabezas, M. Bautista, S. Menéndez, J. Crespo y F. Pons Romero

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

Introducción: La elastografía en tiempo real permite valorar la elasticidad hepática mediante una incorporación tecnológica a un ecógrafo convencional.

Objetivos: Determinar la capacidad diagnóstica de la elastografía en tiempo real para evaluar la fibrosis hepática. El resultado obtenido se relacionó con la fibrosis hepática, el resultado de la elasticidad del tejido hepático obtenido por Fibroscan y con marcadores indirectos de fibrosis (APRI, Forns, FIB4, fibrotest).

Métodos: Se analizaron 40 pacientes con HC-VHC (hombres, edad media) a los que había practicado una biopsia hepática en los seis meses previos. Posteriormente, y de forma simultánea, se practicaron elastografía transitoria mediante Fibroscan (Echosens, Francia), elastografía en tiempo real mediante un equipo ecográfico EUB-8500 (Hitachi Medical System, Tokyo, Japón) y marcadores indirectos de fibrosis (APRI, Forns, FIB4, fibrotest). La cuantificación histológica de la fibrosis se efectuó utilizando el índice METAVIR. Respecto al Fibroscan, se consideraron válidos los procedimientos con índice intercuartil/LSM < 30% y con una tasa de éxito superior al 60%. Dos investigadores independientes efectuaron la elastografía en tiempo real, obteniendo 5 medidas cada uno de ellos. El análisis cuantitativo de la imagen obtenida se efectuó mediante el análisis informatizado de un histograma obtenido durante la captación de las imágenes.

Resultados: La edad media de los 40 pacientes incluidos fue de $49,7 \pm 9,7$. La distribución del estadio de fibrosis fue: F0-I: 16; F2: 6; F3: 12; F4: 6. La longitud del cilindro hepático fue de $1,49 \pm 0,39$ mm. Se obtuvo un registro adecuado de elastografía en tiempo real (ETR) en la totalidad de los pacientes incluidos en este trial. Respecto a la elastografía transitoria, se observó una extraordinaria correlación intraobservador ($r: 0,87$; $p < 0,001$) e interobservador ($r: 0,89$; $p < 0,001$). Del mismo modo, se obtuvo una correlación significativa entre la media de la ETR obtenida por los dos investigadores y la medida del Fibroscan ($r: 0,466$, $p < 0,01$). Del mismo modo, se observó una notable correlación entre el estadio de fibrosis y el valor medio de la ETR ($p < 0,01$), no existiendo correlación alguna entre la ETR y la presencia o el grado de esteatosis (p : ns). La media del Fibrotest fue $0,55 \pm 0,18$, con una actividad inflamatoria media (Actitest) de $0,50 \pm 0,22$. Los métodos indirectos de medida de la fibrosis (APRI, Forns, FIB4 y Fibrotest) mostraron una tendencia a la correlación tanto con el Fibroscan como con la elastografía en tiempo real.

Conclusiones: La elastografía transitoria en tiempo real es un método alternativo para la medida de la fibrosis hepática observándose una notable correlación con la elastografía de transición obtenida por Fibroscan. Además de explorar la elasticidad del tejido hepático permite el estudio ecográfico convencional de forma simultánea.

Trasplante hepático

P-107. LA PRESENCIA DE FIBRA SINUSOIDAL PERIORTAL EN LA BIOPSIA PRECOZ EN LOS PACIENTES TRASPLANTADOS POR VHC PREDICE EL DESARROLLO DE HIPERTENSIÓN PORTAL Y FIBROSIS SIGNIFICATIVA AL AÑO DEL TRASPLANTE

Z. Mariño^a, L. Mensa^a, G. Crespo^a, S. Lens^a, R. Miquel^b, J.A. Carrión^a, S. Pérez de Pulgar^a, X. Forns^a y M. Navasa^a

^aUnidad de Hepatología. CIBERehd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona; ^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic de Barcelona. España.

Introducción: Un tercio de los pacientes que reciben un trasplante hepático (TH) por hepatopatía secundaria al VHC desarrollarán cirrosis hepática a los 5 años post TH. La presencia de fibrosis significativa ($F = 2$ METAVIR) o gradiente de presión portal (HVPG = 6 mmHg) al año del TH identifica a aquellos pacientes que presentarán una evolución más acelerada. La búsqueda de marcadores precoces que permitan identificar en estadios iniciales a este grupo de pacientes es crucial para diseñar estrategias de seguimiento y tratamiento. La fibra sinusoidal se objetiva en las fases más iniciales del proceso de fibrosis en el injerto hepático. Su papel como marcador de una peor evolución no ha sido explorado hasta la fecha.

Objetivos: Evaluar la presencia de la fibra sinusoidal periportal como marcador histológico identificador de los pacientes portadores del VHC con una evolución más acelerada tras el TH.

Métodos: Se incluyeron 75 pacientes trasplantados por enfermedad hepática secundaria al VHC entre 2001-2010 a los que se les realizó biopsia precoz (entre el 2º y el 6º mes tras el TH) y biopsia y/o medición del gradiente de presión portal (HVPG) al año. Se descartaron previamente todas aquellas biopsias con diagnósticos histológicos diferentes a los de la hepatitis C (rechazo celular, patología de la vía biliar, toxicidad farmacológica). Mediante tinción de Sirius Red, la presencia de fibra sinusoidal periportal se clasificó de forma descriptiva y semicuantitativa en leve, moderada o severa. Dicha clasificación se correlacionó posteriormente con los marcadores ya conocidos de recidiva severa al año ($F = 2$ y/o HVPG = 6 mmHg) así como con otros marcadores bioquímicos y clínicos.

Resultados: La fibrosis sinusoidal se clasificó como leve en 50 (66%) biopsias precoces, como moderada en 13 (17%) y como severa en 10 (16%). El valor medio de HVPG al año del TH en pacientes con afectación sinusoidal significativa (moderada y severa) fue de 10,1 mmHg en comparación con 5,7 mmHg en aquellos con fibrosis sinusoidal leve ($p < 0,01$). El 86% y 76% de los pacientes en cuyas biopsias precoces pudo identificarse fibra sinusoidal periportal moderada o severa ($n = 19$) desarrollaron hipertensión portal (HVPG = 6 mmHg) y $F = 2$ al año del TH, respectivamente. Los factores asociados con el desarrollo de fibrosis sinusoidal significativa en la biopsia precoz fueron la edad del donante ($p < 0,01$), y AST ($p = 0,03$), GGT ($p < 0,01$), bilirrubina ($p < 0,01$) y carga viral ($\log 10$) ($p = 0,02$) al tercer mes post TH.

Conclusiones: La presencia de fibra sinusoidal periportal significativa antes de los 6 meses post TH permite discriminar aquellos pacientes con VHC que desarrollarán hipertensión portal y fibrosis significativa al año. La valoración de la fibrosis sinusoidal periportal precoz podría ser de utilidad para la toma de decisiones como el inicio de tratamiento antiviral temprano.

P-108. LA RIGIDEZ HEPÁTICA AL AÑO DEL TRASPLANTE IDENTIFICA A LOS PACIENTES TRASPLANTADOS POR HEPATITIS C CON RIESGO DE PÉRDIDA DEL INJERTO Y DESCOMPENSACIÓN CLÍNICA

G. Crespo, S. Lens, Z. Mariño, J.A. Carrión, M. Navasa y X. Forns

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

Introducción: La recurrencia de la hepatitis C tras el trasplante hepático (TH) tiene una importante repercusión sobre la viabilidad del injerto a medio plazo. El estadio de fibrosis y el gradiente de presión venosa hepática (GPVH) al año del trasplante identifican a los pacientes con más riesgo de mala evolución. La medición de la rigidez hepática mediante elastografía de transición (ET, Fibroscan) se correlaciona con la fibrosis y el GPVH, pero no se ha estudiado su capacidad para predecir los eventos clínicos tras el trasplante.

Objetivos: Evaluar la capacidad de la elastografía de transición para predecir eventos clínicos en la recurrencia de la hepatitis C tras el TH.

Métodos: Se incluyeron 193 pacientes que recibieron un TH por infección crónica por VHC entre 2004 y 2010 y que sobrevivieron al menos un año tras el mismo. Se realizó la medición de ET a los 12 meses del trasplante, estableciendo como punto de corte 8,7 kPa (Carrión et al. Liver Transpl, 2006). Se evaluó la pérdida del injerto (muerte o retrasplante) y el desarrollo de descompensaciones clínicas (ascitis, encefalopatía hepática o hemorragia varicosa).

Resultados: De los 193 pacientes, en 153 (79%) se realizó la medición del valor de ET al año del TH. En el resto de pacientes no se obtuvo valor de ET debido a la presencia de ascitis (n = 8), complicaciones biliares (n = 6), obesidad (n = 5) u otras causas (n = 21). Durante un seguimiento mediano de 32 meses (rango 1-79) tras la evaluación, 7 de 85 pacientes (8%) con valor de ET menor a 8,7 kPa perdieron el injerto frente a 22 de 68 (32%) pacientes con ET = 8,7 kPa (log-rank < 0,001). De forma similar, el 10% de los pacientes con valores de ET menores a 8,7 kPa presentaron descompensaciones clínicas durante el seguimiento frente al 45% de los pacientes con ET = 8,7 kPa (log-rank < 0,001).

Conclusiones: La elastografía de transición es un método seguro y eficaz para predecir la evolución de los pacientes trasplantados por hepatitis C. Un valor de ET superior a 8,7 kPa al año del TH permite reconocer a los pacientes con más riesgo de presentar descompensaciones clínicas y de perder el injerto y por tanto con indicación para recibir tratamiento antiviral.

P-109. LA EDAD AVANZADA DEL DONANTE Y EL GÉNERO FEMENINO DEL RECEPTOR IDENTIFICAN A LOS PACIENTES NO RESPONDEDORES AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS C POSTRASPLANTE HEPÁTICO CON MAYOR RIESGO DE PÉRDIDA DEL INJERTO

G. Crespo^a, Z. Mariño^a, S. Lens^a, J.A. Carrión^a, R. Miquel^b, J. Bosch^a, M. Navasa^a y X. Forns^a

^aUnidad de Hepatología. CIBERehd. IDIBAPS. Universidad de Barcelona; ^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic de Barcelona. España.

Introducción: La recurrencia de la hepatitis C tras el trasplante hepático (TH) es el principal problema de los programas de TH en nuestro medio. La eficacia del tratamiento antiviral en la hepatitis C post trasplante es subóptima y sus efectos sobre la fibrosis hepática y la presión portal a largo plazo no han sido bien estudiados. Asimismo, se desconoce cuáles son las variables que influyen en la evolución clínica de los pacientes trasplantados que no responden al tratamiento antiviral.

Objetivos: Los objetivos del estudio fueron: 1) evaluar los efectos del tratamiento antiviral sobre la fibrosis hepática, la presión

portal y los eventos clínicos en pacientes con hepatitis C post-trasplante y 2) identificar aquellas variables asociadas con la pérdida del injerto en los pacientes no respondedores al tratamiento.

Métodos: Entre 2001 y 2008, 118 trasplantados por infección crónica por VHC recibieron tratamiento antiviral para la recurrencia de la hepatitis C sobre el injerto. Se realizaron biopsias hepáticas y medidas del gradiente de presión portal antes del tratamiento, al concluir el mismo y 3 años tras completar la terapia.

Resultados: Cuarenta y tres pacientes (36%) alcanzaron la respuesta viral sostenida (RVS). A los 3 años de concluir el tratamiento, la fibrosis hepática disminuyó o permaneció estable en el 82% de los pacientes que consiguieron la RVS y aumentó en el 61% de los no respondedores (p < 0,001). El gradiente de presión portal disminuyó o permaneció estable en el 100% de los pacientes con RVS, mientras que aumentó en el 41% de los no respondedores (p < 0,001). Estos efectos tuvieron una importante traducción clínica: la supervivencia del injerto a los 5 años del trasplante fue del 91% en los pacientes que alcanzaron la RVS y del 48% en los no respondedores (p < 0,001). Entre los no respondedores, el sexo femenino del receptor, la edad avanzada del donante y la fibrosis avanzada en la biopsia pretratamiento se asociaron significativamente con la pérdida del injerto. Encontramos una asociación sinérgica entre la edad del donante y el sexo del receptor: el 100% de las mujeres no respondedoras que recibieron su injerto de donantes mayores de 55 años y el 50% de las mujeres con donantes menores de 55 años perdieron el injerto durante el seguimiento, mientras que para los hombres no respondedores la proporción de pérdida de injerto fue del 52% si el donante era mayor de 55 años y del 33% en caso de donantes jóvenes (p = 0,004).

Conclusiones: La respuesta viral sostenida al tratamiento antiviral en la recurrencia de la hepatitis C tras el trasplante hepático se asocia a una mejoría en la fibrosis hepática, el gradiente de presión portal y la supervivencia del injerto. Las mujeres que no responden al tratamiento presentan un riesgo muy elevado de perder el injerto a medio plazo, especialmente si la edad del donante de su injerto es avanzada.

P-110. EL PAPEL DE LA COLANGIOSCOPIA CON SISTEMA SPYGLASS EN PACIENTES CON COMPLICACIONES BILIARES DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

D. Balderrama^a, O. Sendino^a, J.M. Bordas^a, G. Martínez-Palli^b, C. Rodríguez de Miguel^a, R. Miquel^c, M. Navasa^d, J. Llach^a y A. Cárdenas^a

^aServicio de Gastroenterología y Endoscopia; ^bServicio de Anestesia; ^cUnidad de Anatomía Patológica; ^dIDIBAPS. CIBERehd. Servicio de Hepatología. Hospital Clínic de Barcelona. España.

Introducción: La colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) es el tratamiento de elección en la estenosis de la anastomosis biliar (EAB) posterior al trasplante hepático (TH). Los principales inconvenientes de esta técnica son la imposibilidad de visualizar de forma directa de la vía biliar y el rendimiento diagnóstico de las muestras histológicas que se obtiene con la misma. Existen pocos datos sobre la utilidad de la colangioscopia en los pacientes con TH que requieren CPRE por complicaciones biliares. El objetivo de este estudio prospectivo fue describir las características colangioscópicas e histológicas de las complicaciones biliares posterior al TH utilizando el sistema de colangioscopia de operador único SpyGlass.

Métodos: Durante el período 06/2009-60/2011 incluimos de forma prospectiva los receptores de TH de donante cadavéricos mayores de 18 años con indicación de CPRE por complicaciones biliares. Los pacientes se dividieron en: Grupo 1, pacientes con EAB; y Grupo 2, pacientes con complicaciones biliares diferentes a EAB. En todos los pacientes se realizó colangioscopia (Spyglass Direct Visua-

lization System) con toma de biopsias de la zona de la anastomosis biliar y del conducto biliar nativo y del injerto. Las biopsias obtenidas se analizaron con tinción de H-E.

Resultados: Se incluyeron 16 pacientes: 12 en el Grupo 1 y 4 en el Grupo 2. Se pudo realizar el procedimiento con visualización de la zona de interés en todos los pacientes y la toma de biopsias biliares bajo visión directa en 15/16 (94%) pacientes. El tiempo medio de colangioscopia fue de 26.8 ± 10.1 minutos. En los pacientes del Grupo 1 se observaron 2 patrones colangioscópicos diferentes a nivel de la zona de la EAB: patrón A (edema y eritema) y patrón B (edema, úlceras y esfacelo). En los pacientes del Grupo 2 se observó una mucosa pálida con edema y eritema leve a nivel de la anastomosis. La colangioscopia mostró litiasis como hallazgo adicional no observado en el colangiograma inicial de la CPRE en 5 (33%) pacientes. El estudio histológico de la EAB mostró inflamación intraepitelial con pseudostratificación de los núcleos a nivel del epitelio además de infiltrado estromal. Los paciente con patrón colangioscópico A presentaron un mejor respuesta al tratamiento con CPRE, requiriendo un menor periodo de tratamiento con prótesis plásticas (153 días vs 457 días, $p = 0,02$) y una mejor respuesta final al tratamiento con CPRE (92% vs 33%, $p = 0,13$). Un paciente presentó colangitis leve como complicación del procedimiento.

Conclusiones: La colangioscopia es un procedimiento útil y seguro en receptores de TH con complicaciones biliares permitiendo una visualización adecuada y toma de biopsias de la anastomosis biliar. Existen dos patrones colangioscópicos en pacientes con TH y EAB que ayudan a predecir la respuesta al tratamiento con CPRE.

P-111. RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL TRASPLANTE HEPÁTICO POR HEPATITIS B CON INJERTOS DE DONANTES ANTI-HBC POSITIVOS

M. García-Eliza^a, A. Rubín^a, V. Aguilera^a, M. Berenguer^a, S. Pascual^b, N. Jiménez^a, F. San Juan^c, R. López-Andújar^c y M. Prieto^a

^aSección de Hepatología; ^{Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. España.}

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

Introducción: Los pacientes trasplantados por enfermedad relacionada con el virus de la hepatitis B (VHB) son en principio el grupo ideal para recibir los injertos de donantes HBsAg- anti-HBc+. Sin embargo, en el único estudio de casos y controles existente (Joya-Vázquez. Transpl, 2002), el uso de estos donantes se asoció con un riesgo 2,5 veces mayor de hepatitis B recurrente. El objetivo del presente estudio ha sido evaluar el impacto a largo plazo de la utilización de injertos de donantes anti-HBc+ en pacientes trasplantados por hepatitis B.

Métodos: Entre el 1-1-1995 y el 31-12-2010, se realizaron 1.618 trasplantes hepáticos (TH) en nuestro centro, de los cuales 153 (9,5%) fueron por enfermedad hepática relacionada con el VHB. La población de estudio estuvo constituida por 150 pacientes (en 3 pacientes no se disponía de serología VHB del donante).

Resultados: De los 150 pacientes trasplantados por hepatitis B (86% hombres, 13% HBsAg+, 29 (19%) recibieron un injerto de un donante anti-HBc+ y 121 (81%) de un donante anti-HBc-. 134 (89,3%) pacientes tenían cirrosis, 27 (18,5%) coinfección con el VHD, 10 (6,7%) coinfección con el VHC y 50 (33,3%) presentaban un carcinoma hepatocelular (CHC) injertado. 88 (58,79%) pacientes habían recibido tratamiento antiviral pre-TH y 32 (25,2%) presentaron ADN-VHB sérico positivo en el momento del TH. Con una mediana de seguimiento de 5,5 años (rango 0,03-16 años), 11 (7,6%) de los 144 pacientes con al menos una serología VHB post-TH, desarrollaron una hepatitis B a una mediana de 1,8 años (rango 0,07-3,5 años) post-TH. La probabilidad acumulada de hepatitis B al 1°, 5° y

10° año fue de 3,7%, 8,3% y 8,3% en los receptores de un injerto anti-HBc+ vs 2,7%, 9,8% y 9,8% en los que recibieron un injerto anti-HBc- (log-rank test $p = 0,99$). En el análisis multivariante, los factores que se asociaron independientemente con el desarrollo de hepatitis B post-TH fueron el ADN-VHB sérico positivo pre-TH y el rechazo agudo. 36 (24%) de los 150 pacientes han fallecido: 7 (24%) receptores de injertos de un donante anti-HBc+ vs 29 (24%) de los que recibieron un injerto anti-HBc- ($p = ns$). La supervivencia al 1°, 5° y 10° año de los receptores de un injerto anti-HBc+ fue 87%, 82% y 58%, respectivamente, vs 87%, 82% y 74%, en los receptores de injertos anti-HBc- (log-rank test $p = 0,73$). En el análisis multivariante, sólo la edad, la presencia de coinfección con el VHC y el rechazo crónico fueron factores independientes asociados con la supervivencia. La presencia de CHC no se asoció a una disminución de la supervivencia ($p = 0,31$), si bien en este subgrupo de pacientes, la existencia de recidiva de CHC sí se asoció con una supervivencia disminuida ($p < 0,0001$) y con un aumento en la probabilidad de hepatitis B post-TH ($p = 0,001$).

Conclusiones: En pacientes trasplantados por hepatitis B, la utilización de injertos de donantes anti-HBc+ no tiene un impacto negativo a largo plazo sobre la probabilidad de desarrollo de hepatitis B post-TH ni sobre la supervivencia del paciente.

P-112. EFICACIA DEL TIPS EN LA PREVENCIÓN DE LA TROMBOSIS PORTAL COMPLETA EN PACIENTES CIRRÓTICOS EN ESPERA DE TRASPLANTE HEPÁTICO

D. d'Avola^{a,b}, G. Zozaya^c, J.I. Bilbao^d, F. Pardo^c, F. Rotellar^c, M. Iñarrairaegui^{a,b}, J. Quiroga^{a,b}, B. Sangro^{a,b}, J. Prieto^{a,b} y J.I. Herrero^{a,b}

^aCIBERehd.

^bUnidad de Hepatología; ^cCirugía HPB; ^dRadiología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La trombosis portal completa puede complicar la cirugía del trasplante hepático, aumentando su dificultad técnica, los requerimientos transfusionales y en algún caso, afectando la supervivencia post-trasplante. En pacientes con trombosis portal parcial el TIPS puede prevenir la obstrucción completa de la vena porta.

Objetivos: Evaluar la eficacia del TIPS en la prevención de la trombosis portal completa en candidatos a trasplante hepático con trombosis portal parcial.

Métodos: Se analizaron retrospectivamente las historias clínicas de 15 pacientes consecutivos con cirrosis hepática y trombosis portal parcial candidatos a trasplante hepático en que se colocó TIPS antes del trasplante. El grupo control lo constituyeron 8 pacientes trasplantados, comparables por características demográficas y clínicas, con trombosis portal parcial, conocida antes del trasplante, sin TIPS. De todos los pacientes se evaluó la permeabilidad de la vena porta durante la cirugía y los requerimientos transfusionales durante el trasplante. Asimismo se analizaron las principales complicaciones.

Resultados: En 8 de los 15 pacientes con TIPS, la indicación del TIPS fue la profilaxis de la trombosis completa ante la cirugía, en 6 pacientes fue la profilaxis secundaria de hemorragia digestiva alta refractaria y en 1 paciente, ascitis refractaria. No se observaron complicaciones relevantes en los pacientes en que se realizó TIPS y todos se trasplantaron. La supervivencia a 1 y 5 años tras el trasplante fue similar en los dos grupos (grupo TIPS 92 y 85% vs grupo no-TIPS 100 y 75%, respectivamente; $p = ns$). El requerimiento transfusional y la mediana del tiempo de isquemia durante el trasplante fue similar en los dos grupos. Sin embargo, en todos los pacientes con TIPS la vena porta se encontró permeable en la cirugía, mientras que en 4/8 pacientes (50%) sin TIPS se encontró trombosis portal completa ($p = 0,008$).

Conclusiones: En pacientes con trombosis portal parcial la realización de TIPS previamente al trasplante puede prevenir la trombosis portal completa.

P-113. 10 AÑOS DE TRASPLANTE HEPÁTICO (2001-2011) EN PACIENTES VIH CON CIRROSIS VHC: LA COINFECCIÓN NO REDUCE LA SUPERVIVENCIA EN LOS PRIMEROS 5 AÑOS

A. Moreno Zamora^a, S. del Campo^b, R. Bárcena^b, M.J. Pérez-Eliás^a, M.A. Rodríguez-Gandía^b, C. Quereda^a, A. Albillos^b, J.L. Casado^a, J. Graus^b, J. Fortún^a, Y. Meije^a, M.L. Mateos^c, J. Nuño^d, A. Martínez^e, A. Moreno^f y S. Moreno^a

^aServicio de Enfermedades Infecciosas; ^bServicio de Gastroenterología; ^cServicio de Microbiología; ^dServicio de Cirugía General y Digestiva; ^eCoordinación de Trasplantes; ^fServicio de Anatomía Patológica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

Introducción: Existe controversia sobre el impacto desfavorable de la coinfección por VIH en la evolución de pacientes con cirrosis por virus de hepatitis C (VHC) sometidos a trasplante hepático (TH).

Objetivos: Evaluar los factores independientes de mortalidad post-TH en todos los pacientes con cirrosis VHC sometidos a TH en un Centro de Referencia desde la aceptación de pacientes VIH (enero 2001-noviembre 2011, N = 195).

Métodos: Análisis descriptivo de características basales y de la evolución post-TH de toda la serie; análisis uni y multivariable (regresión de Cox) de mortalidad post-TH, y curvas de supervivencia excluyendo pacientes con mortalidad precoz (< 90 días).

Resultados: El grupo de pacientes VIH supuso el 12% de los TH (N = 23). Fueron pacientes más jóvenes (45 ± 6 vs 52 ± 9 años, $p = 0,0001$), con menor frecuencia de carcinoma hepatocelular (CHC) como indicación de TH (30% vs 54%, $p = 0,03$), y mayor frecuencia de coinfección VHC/VHB (26% vs 4%, $p = 0,001$). No hubo diferencias en la distribución de genotipos VHC: (G1 o G4 77% vs 84%, $p = 0,37$), ni en el MELD al TH (global 18 ± 7 vs 16 ± 6 ($p = 0,24$); 20 ± 7 vs 19 ± 5 excluyendo pacientes con CHC ($p = 0,78$), ni en la media de tiempo en lista (179 ± 138 vs 246 ± 228 días, $p = 0,17$), aunque se observó una tendencia a un menor tiempo en lista en la población VIH si se excluían pacientes con CHC como indicación de TH: 152 ± 137 vs 278 ± 280 días, $p = 0,08$. La prevalencia de mismatch CMV fue del 9% vs 6% ($p = 0,95$). La mediana de seguimiento post-TH hasta la actualidad es de 700 días (0-3784), sin diferencias en la tasas de mortalidad precoz (< 90 días), retrasplante, rechazo celular agudo, o infección por CMV en pacientes VIH+ vs VIH-: 4% vs 12% ($p = 0,48$), 4% vs 6% ($p = 1$), 22% vs 33% ($p = 0,27$), 43% vs 27% ($p = 0,11$), ni en la mediana de tiempo a infección por CMV (26 vs 42 días). En el análisis de regresión de Cox, fueron factores independientes de mortalidad tras TH el MELD en el TH (HR 1,054; IC95% 1,008-1,102, $p = 0,022$), la infección por CMV (HR 2,319; IC95% 1,347-3,992, $p = 0,002$), y la edad del receptor (HR 1,043; IC95% 1,012-1,074, $p = 0,006$). Las curvas de Kaplan-Meier muestran supervivencias similares a 1, 3 y 5 años en pacientes VIH+ vs VIH-: 95% vs 85%; 78% vs 71%; 65% vs 60% ($p = 0,42$), y tasas similares de recurrencia viral severa (13% en ambos grupos), muerte relacionada con VHC (60% (3/5) vs 46% (23/50), $p = 0,66$), y uso de peg-IFN/RBV (35% en ambos grupos).

Conclusiones: En pacientes trasplantados por cirrosis VHC, la coinfección VIH no empeora el pronóstico en los primeros 5a, siendo factores independientes de mortalidad el MELD al TH, la infección por CMV, y la edad del receptor.

P-114. DESARROLLO DE ESTEATOSIS EN LOS NÓDULOS DE HEPATOCITOS HUMANOS PRESENTES EN EL HÍGADO MURINO HUMANIZADO

B. Anagí^a, D. Moreno^a, O. Lamas^b, L. Neri^a, G. González-Aseguinolaza^a, P. Maurel^c, J. Muntané^d, J.I. Riezu-Boja^a, J. Prieto^{a,e,f} y R. Aldabe^{a,f}

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

^bDepartment of Infectious Diseases. Molecular Virology. Otto Meyerhof-Zentrum (OMZ). University Hospital Heidelberg. Alemania.

^cINSERM U632. Hepatic Physiopathology. Montpellier. Francia.

^dUnidad del Hígado. IMIBIC. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. España.

^eCIBERehd.

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

Introducción y objetivos: En la actualidad existe una carencia de modelos experimentales apropiados que permitan predecir los resultados que van a obtenerse en los tratamientos en pacientes dadas las diferencias existentes entre los modelos animales utilizados y los humanos. Con el fin de facilitar los estudios preclínicos se están desarrollando ratones que posean alguno de sus órganos o tejidos compuestos por células humanas. De esta manera se ha conseguido implantar hepatocitos humanos en el hígado de ratones inmunodeficientes, los cuales son susceptibles de ser utilizados en estudios en los que se pueda analizar la respuesta de los hepatocitos humanos a diferentes tratamientos, sirviendo también como modelo animal para analizar la infección de los virus HCV y HBV. Sin embargo no se ha prestado mucha atención al estado y estructura de los nódulos formados por hepatocitos humanos generados. El objetivo de este trabajo es la caracterización de los nódulos de hepatocitos humanos presentes en los hígados de ratones humanizados.

Métodos: Hemos utilizado ratones Balb/C Rag-/- / ?c-/- a los que se inyectó un virus recombinante (AAV y adenovirus) codificante para timidina kinasa del virus herpes simple (Tk) seguido de la administración de ganciclovir y posterior trasplante (inyectando en el bazo) de hepatocitos humanos aislados a partir de órganos explantados o a partir de tejido obtenido tras hepatectomías parciales.

Resultados: El trasplante de hepatocitos humanos tras la generación de un daño crónico en el hígado inducido al administrar ganciclovir a ratones cuyos hepatocitos expresan la Tk permite la formación de nódulos formados por hepatocitos humanos, los cuales transcurridas varias semanas empiezan a acumular lípidos en su citoplasma. Este efecto se encuentra asociado a una deficiente polarización de los hepatocitos, así como a una presencia reducida de células endoteliales murinas asociadas a los hepatocitos humanos. Este efecto no se observa cuando se trasplantan hepatocitos de ratón, los cuales forman unos nódulos de regeneración indistinguibles de los que se originan a partir de las células del órgano huésped.

Conclusiones: Los hepatocitos humanos implantados en un hígado murino generan nódulos en los cuales a lo largo del tiempo se observan células en las que se acumulan lípidos en su citoplasma. Este efecto se encuentra ausente cuando se trasplantan hepatocitos de ratón, lo cual sugiere que existen ciertas limitaciones entre las dos especies para que les lleguen las señales correctas a los hepatocitos humanos cuando están proliferando dentro del parénquima murino.

P-115. LA TASA DE FILTRADO GLOMERULAR A LOS 3 MESES DEL TRASPLANTE HEPÁTICO ES ALTAMENTE PREDICTIVA DE DISFUNCIÓN RENAL CRÓNICA

M. Prieto^a, R. Bañares Cañizares^b, E. Varo^c y M. Guilera^d

^aHospital La Fe. Valencia. España.

^bHospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

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

^dNovartis Farmacéutica. Barcelona. España.

Introducción: Conocer la frecuencia y gravedad de la disfunción renal crónica (DRC) en el trasplante hepático (TH) facilitaría un diagnóstico más precoz y mejoraría su manejo terapéutico. Los objetivos del estudio fueron conocer la prevalencia de DRC, según diferentes criterios diagnósticos, e identificar factores predictores de DRC.

Métodos: Estudio observacional, transversal, multicéntrico, nacional. Se analizaron un total de 409 pacientes consecutivos con TH de al menos 2 años de evolución. Se evaluó la presencia de DRC según criterios clínicos del investigador y mediante criterios objetivos de laboratorio: creatinina sérica ≥ 2 mg/dl y/o tasa de filtrado glomerular (FG), estimada por la ecuación MDRD, ≤ 60 ml/min/1,73 m². Se utilizó un modelo multivariante de regresión de Cox para investigar los factores asociados a la DRC.

Resultados: Se analizaron 402 pacientes válidos, 71,6% hombres, con una edad media (DE) de 52,4 (9,8) años. La indicación más frecuente de TH fue cirrosis hepática (79,4%): secundaria a alcohol (48,6%), por VHC (38,6%) o VHB (12,9%), con hepatocarcinoma en el 28,2% de los casos. La mediana (rango) de tiempo desde el trasplante fue de 6,0 (2-20) años. De acuerdo con los criterios del investigador, el 35,3% de los pacientes presentaba DRC, mientras que de acuerdo a criterios objetivos la DRC fue del 50,3%. En el 32,2% de los casos con diagnóstico objetivo el investigador no consideró la existencia de DRC. Factores independientes asociados a DRC fueron: FG ≤ 60 ml/min/1,73 m² a los 3 meses post-TH (HR = 4,76; p < 0,0001), tratamiento con inhibidores de la calcineurina (HR = 2,31; p < 0,0371), receptores de sexo masculino (HR = 1,98; p < 0,0260) y TH realizado antes del año 2000 (HR = 1,95; p < 0,0279).

Conclusiones: El uso del FG permite una identificación más precoz del DRC que el diagnóstico clínico basado en la creatinina sérica. La tasa de FG a los 3 meses post-TH es altamente predictiva de la DRC.

P-116. ENFERMEDAD ÓSEA EN PACIENTES CIRRÓTICOS EVALUADOS PARA TRASPLANTE HEPÁTICO

A. Alcalde Vargas, J.M. Pascasio Acevedo, I. Gutiérrez Domingo, R. García Jiménez, J.M. Sousa Martín, M.T. Ferrer Ríos, A. Giráldez Gallego, M. Sayago Mota y J.L. Márquez Galán

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

Introducción: La enfermedad ósea (EO) es una complicación frecuente de la cirrosis hepática que puede empeorar después del trasplante hepático (TH) como consecuencia del tratamiento inmunosupresor, condicionando un riesgo importante de fracturas.

Objetivos: Estudiar la prevalencia y características de la EO en cirróticos evaluados para TH.

Métodos: Estudio retrospectivo de una cohorte de pacientes cirróticos evaluados para TH. Se analiza la prevalencia de EO mediante densitometría ósea en cadera/cuello femoral y columna lumbar y su posible asociación con variables demográficas, clínicas, factores etiológicos y función hepática mediante análisis de regresión logística uni y multivariante. Se definen la osteopenia y la osteoporosis con los criterios de la OMS en función de los valores de la densidad mineral ósea (DMO) y la T score: osteopenia (entre -1 y -2,5) y osteoporosis (por encima de -2,5).

Resultados: 486 pacientes (79% hombres), de $53 \pm 8,8$ años (21-69), 62,6% fumadores, 23,7% diabéticos. Índice de masa corporal (IMC) $28,8 \pm 5,7$ (16-43). Child-Pugh: A (22%), B (51%), C (27%). MELD $14,6 \pm 5,4$ (7-33). Etiología: alcohol (59%); VHC (32%); VHB (10%); cirrosis biliar primaria (CBP) (2,3%); cirrosis biliar secundaria (CBs) (2%), otras (10%). Presentaron EO global, 350 pacientes (72%): cadera total, 26% (osteopenia 32%; osteoporosis 4%); cuello femoral, 48% (osteopenia 43%; osteoporosis 5%); columna, 63% (osteopenia 40%; osteoporosis 23%). En el análisis univariante supusieron mayor riesgo de EO: sexo femenino (OR: 1,88; p = 0,023) y menor IMC (OR: 0,95; p = 0,012). En el análisis multivariante resultaron significativas: sexo femenino (OR: 2,43; p = 0,004), IMC (OR: 0,96; p = 0,016) y consumo de tabaco (OR: 1,59; p = 0,043). La CBP presentó EO en el 100% de los casos. Al ajustar la prevalencia de EO a la edad (Z score) en relación a la definida por la T score se observó una disminución de la misma, tanto en cuello femoral (20% vs 48%) como en columna (44% vs 63%).

Conclusiones: Más del 70% de los cirróticos evaluados para TH presentan EO, especialmente frecuente en columna. La cirrosis constituye un factor de riesgo importante de EO que se mantiene al ajustar los valores de densidad mineral ósea a la edad. El sexo femenino, el menor IMC y el consumo de tabaco son los principales factores de riesgo de EO en cirróticos.

P-117. EFICACIA DE LA VACUNACIÓN FRENTE AL VHB CON UNA PAUTA DE 4 DOSIS DE 40 MCG EN CIRRÓTICOS EVALUADOS PARA TRASPLANTE HEPÁTICO Y FACTORES ASOCIADOS A LA RESPUESTA. ¿PUEDE SER MEJORADA?

I. Gutiérrez Domingo, J.M. Pascasio Acevedo, A. Alcalde Vargas, R. Valencia, J.M. Sousa Martín, T. Ferrer, M. Sayago, M. Cuaresma y J.L. Márquez

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

Objetivos: Evaluar la respuesta a una pauta de vacunación frente al VHB con cuatro dosis de 40 µg y los factores asociados a la misma en cirróticos candidatos a trasplante hepático (TH).

Métodos: Estudio retrospectivo de cirróticos evaluados para TH, investigando la respuesta a la vacunación frente al VHB (anti-HBs > 10 UI/ml) con cuatro dosis de 40 µg (0, 1, 2, 6 meses). En pacientes sin respuesta se intentó revacunación con la misma pauta.

Resultados: 278 pacientes, 70% hombres, de $53,6 \pm 9,3$ (17-69) años, 19% diabéticos. Etiología: alcohol (66%), VHC (32%), otra (13%). Child-Pugh: A (33%), B (41%), C (26%). MELD: $12,7 \pm 5,3$ (5-29). BMI: $27,5 \pm 5$ kg/m² (15,9-50). Hubo 10 pacientes antiHbC(+) aislado. Recibieron una, dos, tres y cuatro dosis de vacuna, 7 (2,5%), 12 (4,3%), 50 (18%) y 209 (75,2%) pacientes, respectivamente. 57 pacientes sin respuesta a un ciclo completo fueron revacunados con la misma pauta. La tasa de respuesta global a la vacunación fue del 39,2%; con tres dosis, 36% y con cuatro dosis, 40,7%. El 51% respondieron a la revacunación. Las variables asociadas a mayor respuesta fueron: mejor función hepática [Child-Pugh (A 53,8%; B 33,3%; C 30,1%; p = 0,002), MELD (11,4 vs 13,6; p = 0,001)], ausencia de diabetes (43,6% vs 20,8%; p = 0,002), presencia de anti-HbC (80% vs 37,7%; p = 0,007) y edad más joven (< 45 años, 52,2%; 45-50 años, 40,4%; > 45 años, 34,1%; p = 0,031). En 79 pacientes pudo conocerse la respuesta tras la tercera y la cuarta dosis, siendo la tasa de seroconversión del 36,7 y 53%, respectivamente.

Conclusiones: La tasa de respuesta a la vacunación frente al VHB en cirróticos evaluados para TH alcanza al 36% de los que recibieron al menos 3 dosis, siendo mayor en los pacientes con anti-HbC (+), mejor función hepática, más jóvenes y no diabéticos. Dado el bajo incremento en la respuesta tras la cuarta dosis, en relación a la obtenida tras las 3 primeras dosis, parece recomendable indicar la revacunación en caso de ausencia de respuesta con 3 dosis.

Debe iniciarse la vacunación frente al VHB en estadios precoces de la enfermedad.

P-118. FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO RS12979860 (IL28B) EN RECEPTORES Y DONANTES Y SU PAPEL EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON PEG-IFN/RBV TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

S. del Campo Terrón^a, A.M. Moreno Zamora^b, R. Bárcena Marugán^a, F. García-Hoz^a, M.L. Mateos^c, C. Quereda^b, A. Moreno Caparrós^d, M.J. Pérez Elías^b y J.L. San Millán López^e

^aServicio de Gastroenterología; ^bServicio de Enfermedades Infecciosas; ^cServicio de Microbiología; ^dServicio de Anatomía Patológica; ^eUnidad de Genética Molecular. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

Introducción: El polimorfismo rs12979860 (CC) en la región del gen IL28B confiere a sus portadores mayor probabilidad de respuesta al tratamiento con interferón pegilado y ribavirina (PEGIFN+RBV) de la infección crónica por virus C de hepatitis (VCH) genotipos 1 y 4, pero aún no está claramente establecida su importancia en el tratamiento de pacientes que previamente han sido sometidos a trasplante hepático (TH).

Objetivos: Descripción de la frecuencia alélica del polimorfismo IL28B (SNP rs12979860) en pacientes VCH sometidos a TH y su relación con la respuesta al tratamiento con PEGIFN+RBV. Comparación de la distribución alélica de donantes y receptores con la de controles sanos.

Métodos: Determinación retrospectiva-prospectiva del polimorfismo rs12979860 mediante PCR-RFLP en casos consecutivos de trasplante hepático VCH desde enero de 2001 hasta noviembre de 2011 y en 205 controles sanos. Comparación de la distribución alélica en casos TH frente a controles. Análisis de la relación entre genotipo IL28B de donante (D) y receptor (R) con la caída de la carga viral VCH a la semana 4 de PEGIFN+RBV.

Resultados: Se determinó IL28B en 171 de 195 (88%) TH consecutivos VCH positivos y en 205 controles sanos. Dispusimos de muestras de donante y receptor en 95 (55%), sólo R en 56 (33%) y sólo D en 21 (12%). En 153/171 (89%) VCH fue G1 o 4. Las frecuencias IL28B en controles fueron: CC 51% (n = 105), CT 41% (n = 84) y TT 8% (n = 16). Las frecuencias en Donantes (n = 116) fueron: CC 38% (n = 44), CT 51% (n = 59) y TT 11% (n = 13), p = 0,06 comparada con controles. Las frecuencias en receptores fueron (n = 151): CC 34% (n = 51), CT 49% (n = 74) y TT 17% (n = 26); p = 0,001 comparada con controles. Cuando dispusimos de ambas muestras (n = 95), encontramos concordancia IL28B en 40 (42%) (13CC 42%, 22CT 55%, 5 TT 12%). Se indicó tratamiento con PEGIFN+RBV después de TH-VCH a 67 pacientes (34,4%), 59 de ellos eran VCH-G1/4 (88%). La carga viral basal fue de 6.8log10 IU/ml (mediana; 5,05-8,3): Se dispuso de IL28B en 60/67 (98%): donante y receptor en 46 (69%), sólo D 13 (19%) y sólo R 8 (12%). En los casos VCH-G1/4, el descenso de la carga viral VCH en la 4ª semana de PEGIFN+RBV está relacionado con el genotipo IL28B del receptor (CC -2,16 log10 IU/ml vs CT -0,9 log10IU/ml and TT -0,9 log10IU/ml, p = 0,008); (CC -2,16 log10IU/ml vs no-CC -0,90 log10IU/ml p = 0,002) pero no con IL28B-Donante (CC -0,90 log10IU/ml, CT -1,1 log10IU/ml, TT -0,99 log10IU/ml, p = 0,86; CC -0,90 log10IU/ml vs no-CC -1,1 log10IU/ml p = 0,6). Esta relación no ocurre en casos VCH-G2/3 (CC vs noCC en D(p = 0,65) y R (p = 0,96). El tratamiento PEGIFN+RBV se produjo en 42% de casos R-no-CC y en 23% R-CC (p = 0,018).

Conclusiones: La forma CC de rs12979860 es menos frecuente en receptores de TH que en la población general. En pacientes VCH-G1/4, el alelo IL28B-R influye significativamente en el descenso de la carga viral VCH en la semana 4 de tratamiento con PEGIFN+RBV. Los pacientes CC recibieron de PEGIFN+RBV con menor frecuencia que los no-CC.

P-119. IL-9 EN PACIENTES TRASPLANTADOS HEPÁTICOS ESTABLES A LARGO PLAZO

E. Fábrega García^a, M. López Hoyos^b, D. San Segundo^b, I. Moraleja Yudego^a, B. Sanpedro Andrada^a, F. Casafont Morencos^a, J. Crespo García^a y F. Pons Romero^a

^aServicio de Aparato Digestivo; ^bServicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

Introducción: Los mecanismos implicados en la regulación de la respuesta inmunitaria son complejos y en los últimos años elementos implicados en dichos mecanismos han adquirido importancia en la respuesta alógena y en la tolerancia frente a los trasplantes. Entre estos últimos destacan las células T reguladoras como inductoras de alotolerancia. La IL-9 es una citocina pleiotrópica que recientemente se ha implicado fenómenos de tolerancia. En injerto cutáneo, se ha observado que la IL-9 promueve la capacidad de las células T reguladoras de suprimir la respuesta aloinmune y mediar por tanto en la tolerancia del injerto.

Objetivos: Cuantificar los niveles séricos de IL-9 en pacientes trasplantados hepáticos estables a largo plazo y determinar si distintos grados de inmunosupresión tienen influencia en dichos niveles.

Métodos: Se estudiaron 30 pacientes receptores de trasplante hepático en monoterapia con ciclosporina A o tacrolimus con función hepática estable y libre de episodios de rechazo con un seguimiento mínimo de 8 años. Los pacientes se dividieron en 2 grupos en función del grado de inmunodepresión: a) 17 pacientes con niveles subterapéuticos de anticalcineurínicos y b) 13 pacientes con niveles en rango terapéutico de ciclosporina A o FK506. Como grupo control se incluyeron 34 sujetos sanos.

Resultados: Al analizar todos los pacientes incluidos en el estudio comprobamos que los niveles séricos de IL-9 fueron significativamente superiores al grupo control. Cuando se compararon los niveles de acuerdo a la carga de inmunosupresión se comprobó como los pacientes con niveles subterapéuticos de anticalcineurínicos mostraban una mayor concentración de IL-9 que los que los tenían en rango terapéutico. Este efecto se observó sobre todo en los pacientes en tratamiento con tacrolimus aunque sin alcanzar diferencias significativas.

Conclusiones: Los resultados preliminares obtenidos sugieren que la IL-9 podría participar en los fenómenos de tolerancia en el trasplante hepático. Observamos en los trasplantados hepáticos de larga evolución un efecto diferencial en la inducción de IL-9 entre los pacientes tratados con ciclosporina o tacrolimus. Por tanto, estos resultados podrían contribuir en la elaboración de test diagnósticos no invasivos que nos permitan identificar aquellos pacientes tributarios a incluirse en protocolos de tolerancia operacional.

P-120. ¿SON LAS PRÓTESIS METÁLICAS RECUBIERTAS EL TRATAMIENTO DE ELECCIÓN EN EL TRATAMIENTO DE LOS PROBLEMAS BILIARES POSTRASPLANTE HEPÁTICO?

S. Lorenzo Pelayo^a, F. García Pajares^a, C. Almohalla Álvarez^a, C. de la Serna^b, M. Pérez-Miranda^b, M.T. Herranz Bachiller^a, R. Ruiz Zorrilla^b, L. Sancho del Val^b y G. Sánchez Antolín^a

^aUnidad de Hepatología; ^bUnidad de Endoscopia. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. España.

Introducción: Las complicaciones biliares son una importante causa de morbilidad tras el trasplante Hepático (TOH) y el tratamiento endoscópico es seguro y eficaz. Los stents metálicos recubiertos (SMC) pueden ser una alternativa al recambio periódico de stents plásticos (SP).

Objetivos: Comparar los resultados entre un grupo de pacientes con problema biliar posTOH tratados mediante recambios con SP con un grupo de pacientes tratados con SMC.

Métodos: Comparamos 30 pacientes con problema biliar tratados con SP desde 2002 hasta 2006, con un grupo de 30 pacientes tratados con SMC desde 2007 hasta 2011. Todas las CPRE fueron realizadas por dos endoscopistas expertos en endoscopia avanzada. Se compararon resultados, complicaciones y eficacia.

Resultados: En los 30 pacientes con SP, 20 tenían estenosis, 5 fuga, 5 estenosis y fuga mientras en el grupo tratado con SMC fueron 25, 2 y 3 respectivamente. Se colocó de 1 a 3 SP en cada paciente del grupo SP y 1 en el grupo SMC. 28 de los 30 pacientes con SMC tuvieron previamente SP. El seguimiento mostró en ambos grupos normalización de analítica hepática tras la colocación de los

stents correspondientes. Las complicaciones en el grupo de SP fueron una perforación que no precisó cirugía y una sepsis biliar, resuelta con antibióticos. En el grupo SMC 4 pacientes experimentaron dolor intenso tras inserción del stent. En 6 hubo migración y en 2 incrustación, todo ello resuelto endoscópicamente sin problemas. No hubo ninguna complicación grave. En el grupo SP, 2 pacientes precisaron tratamiento quirúrgico (hepaticoyunostomía), mientras que en el SMC ninguno. El tiempo de tratamiento con recambios de SP fue superior al de SMC.

Conclusiones: La CPRE es una técnica segura y eficaz en el manejo de las complicaciones biliares del TOH con un mínimo porcentaje de complicaciones. Los SMC parecen ser en el momento actual el tratamiento de elección relegando el uso de SP al postrasplante inmediato.