

## COMUNICACIONES ORALES

### 45.º Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 12-14 de febrero de 2020

#### Sesión Oral N.º 4

**Moderadores:** Marta Romero (Toledo) y Pau Sancho (Barcelona)

#### UTILIDAD DEL “MODELO AFP” PARA PREDECIR LA RECURRENCIA TUMORAL EN PACIENTES TRASPLANTADOS POR CARCINOMA HEPATOCELULAR CON CRITERIOS DE MILAN

V. Jiménez Beltrán<sup>1</sup>, M.L. González-Diéguez<sup>1</sup>, V. Cadahía Rodrigo<sup>1</sup>, C. Álvarez-Navascués<sup>1</sup>, M. Varela Calvo<sup>1</sup>, C. García Bernardo<sup>2</sup>, I. González-Pinto<sup>2</sup> y M. Rodríguez García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sección de Hepatología, Servicio de Digestivo; <sup>2</sup>Cirugía Hepatobiliar, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, España.

**Introducción:** En pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC), los niveles elevados de AFP son un factor predictivo de mal pronóstico, tanto en trasplantados como no trasplantados. Niveles > 1.000 ng/ml se han asociado con alto riesgo de recurrencia tumoral (RT) post-trasplante. En los últimos años, se han desarrollado modelos pronósticos de RT que incorporan la AFP, y parecen mejorar la predicción de la RT post-trasplante en comparación con los Criterios de Milan.

**Objetivos:** Evaluar la utilidad del “Modelo AFP” en la RT en pacientes trasplantados por CHC con criterios de Milan pretrasplante.

**Métodos:** Se incluyeron 195 pacientes trasplantados consecutivamente por CHC con criterios de Milan pre-trasplante con una mediana de seguimiento de 4,6 años. Se excluyeron aquellos con supervivencia inferior a 3 meses y los trasplantes de rescate por CHC. El 87% fueron varones con una mediana de edad de 58 años (43-67). La etiología de la enfermedad hepática fue alcohol (45%), VHC (42%), VHB (5%) y otras (8%). Variables analizadas: AFP basal, nº y tamaño de los nódulos tumorales pre- trasplante y del explante, diferenciación tumoral, invasión vascular y puntuación del “Modelo AFP”.

**Resultados:** La tasa de RT fue 9,7% (19/195). El 94% de los pacientes tenían un score del “Modelo AFP” ≤ 2 (137 pacientes con score 0; 32 con score 1; 15 con score 2; 10 con score 3 y 1 paciente con score 4). El 26% (5/19) de las RT se desarrollaron en pacientes con score > 2 y éstos representaron el 5,6% (11/195) de toda la cohorte. De aquellos con score > 2, el 45% (5/11) presentaron RT, frente al 7,6% (14/184) de los que tenían un score ≤ 2 (p = 0,001).

El explante presentaba criterios > Milan en 63% (7/11) de los pacientes con score > 2 y en 16% (31/184) con score ≤ 2 (p = 0,002). Se objetivó invasión microvascular en 36% (4/11) de los explantes con score > 2 y en el 10% (19/184) con score ≤ 2 (p = 0,02). El tiempo en lista de espera fue significativamente inferior en los pacientes con score > 2 (41,5 ± 36,3 vs 89 ± 82,8 días; p = 0,001). La probabilidad de RT post-trasplante a 1,3 y 5 años fue mayor en los pacientes con score > 2 (10%, 42% y 57% vs 1,7%, 6,7% y 9,6%; p < 0,001). La supervivencia libre de RT a 1,3 y 5 años, fue mayor en los pacientes con score ≤ 2 (96%, 87% y 77% vs 90%, 57% y 43%; p = 0,005) así como la supervivencia global (98%, 91% y 82% vs 91%, 60% y 60%; p = 0,02).

**Conclusiones:** En pacientes trasplantados por CHC con criterios de Milan pretrasplante, el “Modelo AFP” fue capaz de diferenciar 2 grupos con distinta probabilidad de recurrencia tumoral post-trasplante y con distinta supervivencia, lo que confirma su utilidad en la selección de pacientes para trasplante. En nuestra serie de pacientes, la aplicación del “Modelo AFP” hubiera evitado una cuarta parte de las recurrencias tumorales excluyendo del trasplante únicamente a un pequeño número de pacientes.

#### FACTORES PREDICTORES DE SUPERVIVENCIA EN LA HEMORRAGIA VARICEAL AGUDA DE BAJO RIESGO EN PACIENTES EN PROFILAXIS SECUNDARIA CON BETABLOQUEANTES Y/O LIGADURA ENDOSCÓPICA

M. Mandorfer<sup>1,2,3</sup>, V. Hernández-Gea<sup>1,4,5</sup>, B. Procopet<sup>6</sup>, Á. Giráldez<sup>7</sup>, L. Amitrano<sup>8</sup>, C. Villanueva<sup>5,9</sup>, D. Thabut<sup>10</sup>, L. Ibáñez Samaniego<sup>5,11</sup>, G. Silva-Junior<sup>1</sup>, J. Martínez<sup>12</sup>, J. Genesca<sup>5,13</sup>, C. Bureau<sup>14</sup>, J. Trebicka<sup>15,16,17</sup>, E. Llop Herrera<sup>5,18</sup>, W. Laleman<sup>19</sup>, J.M. Palazón Azorín<sup>20</sup>, J. Castellote Alonso<sup>21</sup>, L. Lotte Gluud<sup>22</sup>, C. Noronha Ferreira<sup>23</sup>, N. Cañete<sup>24</sup>, M. Rodríguez<sup>25</sup>, A. Ferlitsch<sup>2,26</sup>, J.L. Mundi<sup>27</sup>, H. Grønbæk<sup>28</sup>, M.N. Hernández Guerra<sup>29</sup>, R. Sassatelli<sup>30</sup>, A. dell'Era<sup>31</sup>, M. Senzolo<sup>32</sup>, J. González Abraldes<sup>33</sup>, M. Romero-Gómez<sup>5,34</sup>, A. Zipprich<sup>35</sup>, M. Casas<sup>36</sup>, H. Masnou<sup>37</sup>, M. Primignani<sup>38</sup>, A. Krag<sup>16</sup>, F. Nevens<sup>39</sup>, J.L. Calleja<sup>5,18</sup>, C. Jansen<sup>17</sup>, M.V. Catalina<sup>11</sup>, A. Albillos<sup>12</sup>, M. Rudler<sup>10</sup>, E. Alvarado Tapias<sup>5,9</sup>, M.A. Guardascione<sup>8</sup>, M. Tantau<sup>6</sup>, R. Schwarzer<sup>2,26</sup>, T. Reiberger<sup>2,26</sup>, S. Borbjerg Laursen<sup>16</sup>, M. López Gómez<sup>40</sup>, A. Cachero<sup>21</sup>, A. Ferranese<sup>32</sup>, C. Ripoll<sup>35</sup>, V. La Mura<sup>38,41</sup>, Jaime Bosch<sup>1,3,42</sup> y J.C. García-Pagán<sup>1,4,5</sup>

<sup>1</sup>Unidad Hemodinámica Hepática, Servicio de Hepatología, Hospital Clínic de Barcelona, España. <sup>2</sup>Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine III, Medical University of Vienna, Austria. <sup>3</sup>Vienna Hepatic Hemodynamic Lab, Medical University of Vienna, Austria. <sup>4</sup>Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España. <sup>5</sup>Centro de Investigación Biomédica Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), España. <sup>6</sup>Hepatology Department and 3<sup>rd</sup> Medical Clinic, Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology "Octavian Fodor" and "Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy, Rumania. <sup>7</sup>Clinical Management Unit of Digestive Diseases, University Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, España. <sup>8</sup>Gastroenterology Unit, Ospedale a Cardarelli, Italia. <sup>9</sup>Servei de Patología Digestiva, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España. <sup>10</sup>Groupement Hospitalier Pitié-Salpêtrière-Charles Foix, Francia. <sup>11</sup>Servicio de Medicina de Aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España. <sup>12</sup>Department of Gastroenterology and Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Hospital Universitario Ramón y Cajal and University of Alcalá, Madrid, España. <sup>13</sup>Unidad de Hepatología y Vall d'Hebron Institute of Research (VHIR), Hospital Universitario Vall d'Hebron y Universitat Autònoma de Barcelona, España. <sup>14</sup>Department of Hepato-Gastroenterology, Purpan Hospital, CHU Toulouse, Inserm U858, University of Toulouse, Francia. <sup>15</sup>Department of Internal Medicine I, University Hospital Frankfurt, Alemania. <sup>16</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, Odense University Hospital, Dinamarca. <sup>17</sup>Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Alemania. <sup>18</sup>Unidad de Hepatología, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Universidad Autónoma de Madrid, España. <sup>19</sup>Department of Liver and Biliopancreatic Disorders, KU Leuven, Bélgica. <sup>20</sup>Hepatología, Hospital General Universitario de Alicante, España. <sup>21</sup>Gastroenterology Department, Hepatology Unit, Hospital Universitari de Bellvitge, Idibell, Universitat de Barcelona, España. <sup>22</sup>Gastrounit, Medical Division, Copenhagen University Hospital Hvidovre, Dinamarca. <sup>23</sup>Serviço de Gastroenterologia e Hepatologia, Hospital de Santa Maria-Centro Hospitalar Lisboa Norte, Portugal. <sup>24</sup>Liver Section, Gastroenterology Department and IMIM (Hospital del Mar Medical Research Institute), Liver Section, Gastroenterology Department, Barcelona, España. <sup>25</sup>Department of Gastroenterología, Hospital Central de Asturias, Oviedo, España. <sup>26</sup>Vienna Hepatic Hemodynamic Lab, Medical University of Vienna, Austria. <sup>27</sup>Department of Gastroenterology, University Hospital San Cecilio, Granada, España. <sup>28</sup>Department of Hepatology and Gastroenterology, Aarhus University Hospital, Dinamarca. <sup>29</sup>Gastroenterology Department, University Hospital of the Canary Islands, Tenerife, España. <sup>30</sup>Unit of Gastroenterology and Digestive Endoscopy, Arcispedale Santa Maria Nuova-Ircs, Italia. <sup>31</sup>Gastroenterology Unit, Asst Fatebenefratelli Sacco, Department of Clinical and Biomedical Sciences, Università Degli Studi di Milano, Italia. <sup>32</sup>Multivisceral Transplant Unit, Gastroenterology, Department of Surgery, Oncology and Gastroenterology, University Hospital of Padua, Italia. <sup>33</sup>Cirrhosis Care Clinic, Division of Gastroenterology (Liver Unit), Cegiir, University of Alberta, Canadá. <sup>34</sup>Unidad de Hepatología, Hospital Universitario de Valme, Sevilla, España. <sup>35</sup>First Department of Internal Medicine, Martin Luther University Halle-Wittenberg, Alemania. <sup>36</sup>Unidad de Hepatología, Departamento de Enfermedades Digestivas, Hospital de Sabadell, Universitat Autònoma de Barcelona, España. <sup>37</sup>Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, España. <sup>38</sup>CRC "a.M. and a. Migliavacca" Center for Liver Disease, Division of Gastroenterology and Hepatology, Fondazione Ircs Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Università Degli Studi di Milano, Italia. <sup>39</sup>Department of Liver and Biliopancreatic Disorders, KU

Leuven, Bélgica. <sup>40</sup>Unidad de Hepatología, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, España. <sup>41</sup>UOC Medicina Generale - Emostasi e Trombosi, Fondazione Ircs, Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Italia. <sup>42</sup>Swiss Liver Center, Hepatology, University Clinic for Visceral Surgery and Medicine and Department of Biomedical Research, Inselspital and University of Bern, Suiza.

**Introducción:** El TIPS preventivo (TIPS-p) es el tratamiento de elección en pacientes con hemorragia por varices (HV) que presentan características clínicas de alto riesgo de fracaso terapéutico (Child-Pugh-B con hemorragia activa (CPB+HA) o CP-C 10-13 puntos). En el resto de pacientes, la combinación de betabloqueantes no selectivos y ligadura endoscópica (BBNS+LE) es el tratamiento recomendado para prevenir la recidiva hemorrágica. Sin embargo, existe un subgrupo de pacientes que, a pesar de cumplir criterios de bajo riesgo, presentan una mortalidad más elevada. Nuestro objetivo fue identificar el subgrupo de pacientes teóricamente de bajo riesgo que podrían beneficiarse de tratamientos más eficaces en la prevención de la recidiva (i.e. TIPS) y potencialmente mejorar su supervivencia.

**Métodos:** Estudio prospectivo internacional realizado en 34 centros incluyendo pacientes consecutivos con HV entre 2010 y 2016. Se excluyeron los pacientes con criterios de alto riesgo, > 75 años, CHC fuera de Milán, CPC > 13 o pacientes con indicación de TIPS por fracaso de la profilaxis secundaria.

**Resultados:** Se incluyeron 547 pacientes de bajo riesgo en profilaxis secundaria con BBNS+LE. CTP al ingreso era A: 38%/B: 61%/C < 14: 1% y MELD 12 (IQR: 9-15), y al 5º día A: 40%/B: 54%/C: 6% y 11 (IQR: 9-13). Las tasas de recidiva hemorrágica y mortalidad al año fueron 17% y 13,5%. No identificamos ninguna variable predictiva de recidiva hemorrágica. Sin embargo la ascitis, el Na<sup>+</sup> y creatinina fueron factores predictivos independientes de mortalidad. La combinación de estos 3 parámetros permitió clasificar los pacientes en grupos pronósticos.

**Conclusiones:** Aunque el pronóstico de los pacientes de bajo riesgo es excelente con BBNS+LE, aproximadamente un 20% de los pacientes (ascitis, hiponatremia y/o creatinina elevada) tienen un riesgo considerable de muerte al año de la HVE. En este subgrupo se debe de evaluar si nuevas estrategias terapéuticas (p.e. TIPS) podrían mejorar el pronóstico.

## EL TRATAMIENTO CON RITUXIMAB EN MONOTERAPIA EN PACIENTES ANTIHBc+ CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE Y ENFERMEDADES DEL ESPECTRO DE LA NEUROMIELITIS ÓPTICA NO SE ASOCIA A REACTIVACIÓN DEL VHB

B. Marzo-Escartín<sup>1</sup>, Á. Vidal-Jordana<sup>2</sup>, J. Castilló-Justribó<sup>2</sup>, L. Roade<sup>1</sup>, C. Oriol<sup>2</sup>, M.Á. Robles<sup>2</sup>, R. Esteban<sup>1,3</sup>, M. Tintore<sup>2</sup>, M. Buti<sup>1,3</sup> y M. Riveiro-Barciela<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hepatología-Medicina Interna; <sup>2</sup>Servicio de Neurología-Neuroinmunología, Centro de Esclerosis Múltiple de Cataluña (Cemcat), Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, España. <sup>3</sup>CIBERehd, España.

**Introducción y Objetivos:** Los sujetos con infección crónica por el virus de la hepatitis B (HBsAg+) o curada (antiHBc+ /HBsAg-) pueden presentar reactivación de la infección cuando reciben tratamiento inmunosupresor. Uno de los fármacos que se asocia a mayor riesgo son los agentes antiCD20, principalmente en contexto de quimioterapia hematológica (RCHOP), aunque existen datos escasos sobre el riesgo asociado a su uso en monoterapia.

**Métodos:** Estudio que incluyó todos los sujetos con esclerosis múltiple (EM) o enfermedades del espectro de la neuromielitis óptica (NMOSD) tratados con agentes antiCD20 (rituximab, ocrelizumab) en nuestro hospital. En todos los casos se determinaron las serologías víricas antes del inicio del tratamiento. En aquellos su-

jetos antiHBc+/HBsAg- sin otro inmunosupresor, se realizó seguimiento analítico semestral (ALT, HBsAg, ADN-VHB, antiHBs) sin profilaxis antiviral. Se definió como reactivación del VHB al aumento de 2 log en el ADN VHB o seroreversión a HBsAg positivo.

**Resultados:** 290 pacientes con EM o NMOSD fueron tratados con agentes antiCD20 desde el año 2014: 260 (90%) rituximab y 30 (10%) ocrelizumab. La mayoría (63%) eran mujeres, etnia caucásica (97%), con una media de edad  $48 \pm 10$  años. El HBsAg, anti-VHC y VIH fueron negativos en todos los casos. La anticuerpos antiHBc fueron positivos en 17 (6%), siendo la prevalencia del 11% en pacientes mayores de 50 años. Los sujetos antiHBc+ eran mayores (53,7 vs 47,4,  $p = 0,015$ ) y más frecuentemente varones (59% vs 36%,  $p = 0,05$ ) que los negativos. El 77% de los antiHBc+ habían recibido otros tratamientos inmunomoduladores previamente (59% interferón, 35% acetato de glatirámero, 18% natalizumab), incluyendo bolus de corticoides en los brotes (77%, mediana de 10 bolus). La mediana de tiempo entre el diagnóstico de la enfermedad neurológica y el inicio de terapia antiCD20 fue de 18 años (rango, 0-37). Basalmente todos presentaron ADN VHB indetectable y mediana de títulos de antiHBs de 35 mUI/mL (rango, 0-1.000), siendo en 5 (29%) < 10 mUI/mL. Tras una mediana de seguimiento de 12 meses y 2 ciclos de antiCD20 (rango, 1-6 ciclos), no se observó ningún caso de reactivación del VHB ni cambios significativos de los niveles de antiHBs ( $p = 0,289$ ). Ningún paciente requirió de bolus de corticoides por brote, aunque 4 (23%) sí ajuste de dosis por toxicidad o infecciones.

**Conclusiones:** El tratamiento antiCD20 en monoterapia, en sujetos antiHBc+ con esclerosis múltiple o enfermedades del espectro de la neuromielitis óptica, no parece asociarse a riesgo de reactivación del VHB, si bien se requiere un seguimiento más amplio para confirmar estos hallazgos.

#### SYNERGETIC EFFECT OF A COMBINED TREATMENT WITH ATORVASTATIN AND AMBRISENTAN IN A RAT MODEL OF NASH

M. Bravo Garmendia, I. Raurell, S. Augustin<sup>1</sup>, J. Genescà and M. Martell

*Liver Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Spain.*

**Introduction:** Early stages of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) are associated with endothelial dysfunction. The decrease in vasodilators (NO, nitric oxide) and increase in vasoconstrictors (ET-1, endothelin-1) released by sinusoidal endothelial cells (LSEC), induce hepatic stellate cells (HSC) contraction, increasing intrahepatic resistance and thus portal pressure, even before fibrosis development. Statins have been described to increase NO synthesis in LSEC, while ambrisentan is a selective endothelin receptor A antagonist.

**Objectives:** We aimed to analyse the combined effects of atorvastatin and ambrisentan on liver hemodynamics and histology, together with assessing the contraction ability of HSC from the different study groups.

**Methods:** Sprague-Dawley rats were fed with high fat diet combined with a glucose-fructose beverage (HFGFD), or control-diet (CD) for 8 weeks. Then, HFGFD animals were treated with atorvastatin (10 mg/kg/day) (HFGFD-Ato), ambrisentan (2 mg/kg/day) (HFGFD-Amb), combination of both drugs (HFGFD-AA) or remained untreated (HFGFD-Veh) for 2 more weeks. Hemodynamic parameters were registered and liver histology and serum biochemical determinations were analyzed. Three-dimensional collagen lattice contraction of HSC isolated from all groups were performed.

**Results:** Biochemical analysis revealed a significant rise of alanine aminotransferase (ALT) levels in HFGFD animals ( $p < 0,001$ ), indicating an alteration in hepatic function. These values were reduced to normal with all tested treatments. Atorvastatin alone was more efficient than ambrisentan improving NAS activity, although their combination showed clearly the best result reducing the number of rats with histological NASH (NAS > 3) by more than a 75%. Both atorvastatin and ambrisentan independently reduced portal pressure (PP), without affecting systemic hemodynamic (HFGFD-Veh: 10.8 mmHg vs HFGFD-Ato: 9.42 mmHg,  $p = 0.0001$ ; HFGFD-Amb: 9.62 mmHg,  $p = 0.004$ ), but only the combined treatment was able to reduce PP to levels comparable to those of the control diet group (CD-Veh: 8.45 mmHg vs HFGFD-AA: 9.05 mmHg). This was associated with a reduction in intrahepatic resistance (IHVR) in the groups treated with ambrisentan either alone or in combination (HFGFD-Veh: 4.83 mmHg/mL·min·100 g vs HFGFD-Amb: 3.69 mmHg/mL·min·100 g,  $p = 0.005$ ; HFGFD-AA: 3.33 mmHg/mL·min·100 g,  $p < 0.001$ ), but again, only the group treated with the combination of both drugs showed indistinguishable IHVR values from those of the control group (CD-Veh: 2.86 mmHg/mL·min·100 g vs HFGFD-AA: 3.33 mmHg/mL·min·100 g). Furthermore, HSC from the combined treatment group showed a reduced collagen lattice contraction, even under in vitro ET-1 treatment.

**Conclusions:** In our NASH model rats, the combination of ambrisentan and atorvastatin exerts a potent inhibition of HSC contractility, reducing intrahepatic resistance and normalizing PP.

#### INCIDENCIA E IMPACTO PRONÓSTICO DEL CÁNCER TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO: RESULTADOS DE UNA COHORTE MULTICÉNTRICA

M. Rodríguez-Perálvarez<sup>1</sup>, G. Crespo<sup>2</sup>, T. di Maira<sup>3</sup>, P. Salvador<sup>4</sup>, S. Pereira<sup>5</sup>, A. Fernández Yunquera<sup>6</sup>, T. Serrano<sup>7</sup>, I. Herrero<sup>8</sup>, R. González Grande<sup>9</sup>, Á. López Garrido<sup>10</sup>, R. Ciria<sup>1</sup>, M. Senosiain<sup>4</sup>, C. Bernal<sup>11</sup>, A. Caballero Marcos<sup>6</sup>, S. Lorente<sup>7</sup>, J. Colmenero<sup>2</sup>, F. Nogueras<sup>10</sup>, M. Iñarrairaegui<sup>8</sup>, S. López Ortega<sup>9</sup>, V. Aguilera<sup>3</sup>, A. Valdivieso<sup>4</sup>, C. Boroa<sup>5</sup>, M.D. Espinosa Aguilar<sup>10</sup>, M. Jiménez<sup>9</sup>, J. Rivera<sup>2</sup>, M. Salcedo Plaza<sup>6</sup>, F. Rotellar<sup>8</sup>, M. de la Mata<sup>1</sup>, M.Á. Gómez Bravo<sup>5</sup>, M. Gastaca<sup>4</sup>, M. Navasa<sup>2</sup> y M. Berenguer<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología y Cirugía de Trasplante hepático, Hospital Universitario Reina Sofía, IMIBIC, CIBERehd, Córdoba, España.

<sup>2</sup>Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Clínic, IDIBAPS, CIBERehd, Barcelona, España. <sup>3</sup>Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital La Fe e Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, CIBERehd, Valencia, España. <sup>4</sup>Unidad de Cirugía Hepatobiliar, Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Universitario de Cruces, Bilbao, España. <sup>5</sup>Unidad de Cirugía de Trasplante Hepático, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, España.

<sup>6</sup>Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital General Universitario e Instituto de Investigación biomédica Gregorio Marañón, CIBERehd, Madrid, España. <sup>7</sup>Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, España. <sup>8</sup>Unidad de Hepatología y Cirugía de Trasplante Hepático, Clínica Universitaria de Navarra, IdiSNA, CIBERehd, Pamplona, España. <sup>9</sup>Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital regional Universitario Carlos Haya, Málaga, España.

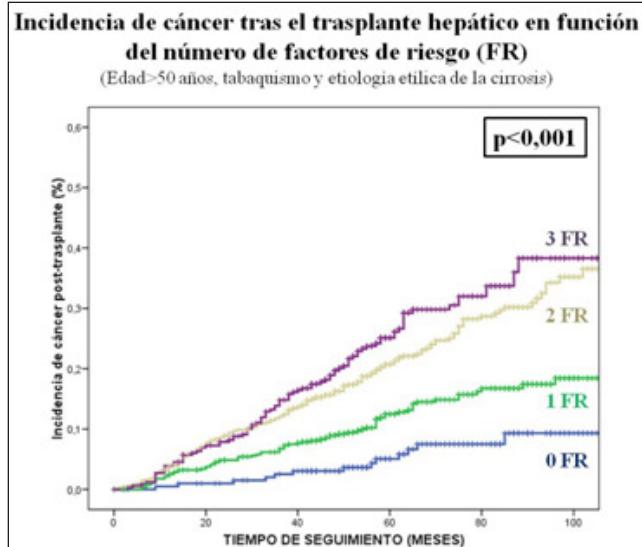
<sup>10</sup>Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Virgen de las Nieves, Granada, España.

**Objetivos:** Conocer la incidencia de cáncer postrasplante hepático (TH) y sus factores predictivos para diseñar protocolos específicos de cribado.

**Métodos:** Estudio multicéntrico observacional en el que participaron 10 centros de TH. Se incluyeron pacientes adultos sometidos a TH (2010-2015) con supervivencia post-TH > 1 año. Criterios de exclusión: trasplante combinado, retrasplante y VIH+. Se estudió la

incidencia de cáncer y la mortalidad mediante regresión de Cox. Para calcular la tasa de incidencia estandarizada (TIE) se utilizaron datos de Globocan 2018 (<https://gco.iarc.fr/>).

**Resultados:** Se incluyeron 1.732 pacientes (edad  $54,4 \pm 9,6$  años, 76,3% hombres, 49% cirrosis etílica, 37,4% cirrosis por virus C). La indicación de TH fue hepatocarcinoma en 703 pacientes (40,6%). Tras un seguimiento mediano de 64 meses (IQR 48-86), 332 pacientes desarrollaron cáncer: incidencia acumulada 17% a los 5 años; tasa de incidencia 0,038 casos por persona\* año; TIE 3,19 (excluyendo hepatocarcinoma). La incidencia de cáncer se ha mantenido estable durante el periodo evaluado. El cáncer impactó negativamente en la supervivencia post-TH (64,1% vs 91,3% a 5 años). El fallecimiento durante el seguimiento se produjo en 154 pacientes con cáncer (46,4%), con una expectativa de vida mediana desde el diagnóstico de 6 meses (IQR 2-15). Tras controlar por la presencia de hepatocarcinoma basal, los factores predictivos independientes de cáncer fueron: edad > 50 años (RR = 2,49;  $p < 0,001$ ), tabaquismo (RR = 1,44;  $p = 0,002$ ) y la etiología etílica de la cirrosis (RR = 1,42;  $p < 0,003$ ). La acumulación de estos factores de riesgo se asoció a un incremento progresivo de la incidencia de cáncer a 5 años: 5,1% con 0 factores, 12,5% con 1 factor, 20,7% con 2 factores y 25,1% con los 3 factores (fig.).



**Conclusiones:** La incidencia de cáncer tras el TH es elevada y conlleva un pronóstico infausto. Se precisa una estrategia de cribado de cáncer post-TH que tenga en cuenta el historial de hábitos tóxicos del paciente.

#### NOVEL USE OF A LINEAGE REPORTER MOUSE STRAIN FOR IN VIVO TRACING OF HEPATOCYTE-DERIVED EXTRACELLULAR VESICLES IN EXPERIMENTAL LIVER DISEASE

E. Blázquez-López<sup>1</sup>, F. Royo<sup>2,3</sup>, E. Vázquez-Ogando<sup>1</sup>, F.J. Cubero<sup>4</sup>, R. Herrero<sup>5,6</sup>, L. Moreno<sup>7,6</sup>, J.A. Lorente<sup>5,6</sup>, A. Cogolludo<sup>7,6</sup>, R. Correa-Rocha<sup>8</sup>, M. Pion<sup>8</sup>, Y. Nevzorova<sup>4</sup>, J. Sierra<sup>1</sup>, M. Puerto<sup>1,3</sup>, I. Ranz<sup>9</sup>, A. Albillos<sup>3,10</sup>, J. Bosch<sup>3,11</sup>, R. Bañares<sup>1,3</sup>, J. Gracia-Sancho<sup>3,11</sup>, J.M. Falcón-Pérez<sup>2,3</sup> and J. Vaquero<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Hepatogastro Lab, Hospital General Universitario Gregorio Marañón-11SGM, Madrid, Spain. <sup>2</sup>Exosomes lab & Metabolomic platform, CIC bioGUNE, Derio, Spain. <sup>3</sup>CIBEREHD, Spain. <sup>4</sup>Liver Inmunopathology, Facultad Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Spain. <sup>5</sup>Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Getafe, Madrid, Spain. <sup>6</sup>CIBERES, Spain. <sup>7</sup>Vascular

Pharmacology Lab, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Spain. <sup>8</sup>Immune-regulation Laboratory, Hospital General Universitario Gregorio Marañón-11SGM, Madrid, Spain. <sup>9</sup>Applications Dept, Miltenyi Biotec SL, Madrid, Spain.

<sup>10</sup>Hospital Universitario Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá, Madrid, Spain. <sup>11</sup>Liver Vascular Biology Lab, IDIBAPS, Barcelona, Spain.

**Introduction:** Specific information about hepatocyte-derived exosomes and extracellular vesicles (EVs) and their role in health and disease mostly derives from cell culture experiments, which do not represent the complexity of whole organisms. The lineage reporter mT/mG mouse strain allows the generation of mice that express the Tomato-dye protein in the plasma membrane of all cells except in Cre- recombinase expressing cells, which express the Green Fluorescent Protein (EGFP).

**Objectives:** To evaluate the lineage reporter mT/mG mouse strain in experimental liver disease as a novel approach for the in vivo identification and isolation of circulating EVs according to their cell of origin.

**Methods:** The mT/mG mouse strain (Stock 07676, Jackson Lab) was crossbred with mice expressing Cre-recombinase under the control of the Lysozyme-C (LysMCre<sup>TM</sup>/mG mice, EGFP in myeloid-derived cells) or the Albumin promoters (AlbCre<sup>TM</sup>/mG mice, EGFP in hepatocytes). Non-fluorescent mice (C57BL/6/J) and the original mT/mG mouse strain were included as controls. Hepatic damage was induced by acetaminophen administration (APAP, 300 mg/kg bw ip). EVs were isolated by immune-magnetic separation (Mouse Exosome Isolation Kit Pan [CD9, CD63 and CD81 proteins] or GFP Isolation Kit, Miltenyi) from mouse plasma, and by ultracentrifugation of culture media from primary hepatocyte cultures from each mouse strain. EVs were analyzed by flow cytometry (FACS, MACSQuant16), Nanoparticle Tracking Analysis (NTA), Dynamic Light Scattering (DLS), transmission electron microscopy (TEM) and Western Blotting.

**Results:** FACS analysis showed that the plasma concentration of EGFP-positive EVs was low in Vehicle-treated AlbCre<sup>TM</sup>/mG mice, but it largely increased in APAP-treated mice. In contrast, APAP treatment did not significantly change the plasma concentration of EGFP-positive EVs in LysMCre<sup>TM</sup>/mG mice. EGFP-positivity of EVs from AlbCre<sup>TM</sup>/mG mice was confirmed by FACS in plasma and hepatocyte culture media samples, and by Western blotting in exosomes isolated from both sources. In mouse plasma samples, the immune-magnetic isolation of hepatocyte-derived and myeloid cell-derived EGFP-positive EVs was also confirmed by FACS and Western blotting. The characteristics of exosome population were confirmed in all EVs isolates.

**Conclusions:** The circulating concentration of hepatocyte-derived EVs is low in normal animals, but it considerably increases after an acute hepatic insult. The lineage reporter mT/mG mouse strain allows the evaluation and isolation of hepatocyte-derived and myeloid cell-derived EVs in murine models of liver disease. This novel and highly valuable approach for the in vivo study of the cell-type of origin of EVs overcomes a major limitation in EVs research, being also applicable to fields different than Hepatology.

**Funded by:** Acción estratégica CIBEREHD 2016, Programas EXO-HEP-CM (S2017/3727) and NanoLiver-CM (Y2018/NMT4949), and ISCIII (PI18/1833).

#### EFFECTO MODULADOR DEL EJERCICIO FÍSICO SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PACIENTES PEDIÁTRICOS OBESOS

M. Juárez-Fernández<sup>1</sup>, E. Nistal<sup>1,2</sup>, R. Quiroga<sup>2</sup>, B. Estébanez<sup>1</sup>, M.V. García-Mediavilla<sup>1,3</sup>, J.A. de Paz<sup>1</sup>, D. Porras<sup>1</sup>, S. Martínez-Flórez<sup>1</sup>, J. González-Gallego<sup>1,3</sup>, M.J. Cuevas<sup>1</sup> y S. Sánchez-Campos<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León, España. <sup>2</sup>Servicio de Aparato Digestivo, Complejo Asistencial Universitario de León, España. <sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), ISCIII, España.

**Introducción:** Actualmente, la obesidad infantil es uno de los principales problemas de salud pública, la cual se asocia con el síndrome metabólico y la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), así como con alteraciones en la composición del microbioma intestinal. Está descrita la capacidad del ejercicio físico como tratamiento en estas patologías, siendo capaz de modular la microbiota intestinal.

**Objetivos:** Determinar el efecto del ejercicio físico sobre la composición de la microbiota intestinal en pacientes obesos pediátricos.

**Métodos:** Se analizaron muestras fecales de 15 niños normopeso y 27 pacientes pediátricos obesos, asignados aleatoriamente a un grupo control y a un grupo experimental que realizó un protocolo de ejercicio físico. La composición bacteriana se determinó mediante secuenciación masiva (*Illumina MiSeq*) y el análisis metabólico se llevó a cabo por resonancia magnética nuclear.

**Resultados:** El análisis metagenómico mostró un perfil bacteriano asociado a obesidad, caracterizado por una mayor abundancia relativa de los filos *Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, así como por una reducción de los filos *Firmicutes* y *Actinobacteria* en comparación con el grupo de individuos sanos. La práctica de ejercicio físi-

co revirtió este perfil microbiano pareciéndose al patrón observado en los individuos normopeso, incrementando la abundancia relativa de los filos *Firmicutes* y *Actinobacteria* y reduciendo la del filo *Proteobacteria*. El análisis de coordenadas principales a nivel de filo mostró una agrupación de las comunidades bacterianas en función de la enfermedad, mientras que el ejercicio físico actuó como un factor de dispersión. Se identificaron un total de 549 géneros, con una representación significativamente menor de *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Coprococcus* y *Streptococcus* en los pacientes obesos. Por el contrario, los géneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Phascolarctobacterium* y *Paraprevotella* mostraron un patrón opuesto. El protocolo de ejercicio físico tendió a incrementar la abundancia relativa de géneros como *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Dialister* y *Akkermansia*, reducidos en los pacientes obesos al inicio del estudio, dando lugar a un perfil microbiano similar al de los niños normopeso. Por otro lado, el análisis del metaboloma fecal reveló cambios a nivel de compuestos como ácidos grasos de cadena corta y aminoácidos ramificados en respuesta al ejercicio físico que se correlacionaron con un patrón microbiano específico.

**Conclusiones:** Nuestros resultados sugieren la existencia de un perfil microbiano asociado a obesidad que puede ser modificado positivamente con la práctica de ejercicio físico, apoyando así la utilidad de este como una terapia no farmacológica en el tratamiento de la obesidad infantil.

Financiado por BFU2017-87960-R, LE063U16, GRS 1888/A/18, FPU 15/05051 y FPU 18/06257. CIBERehd está financiado por el Instituto de Salud Carlos III.