Sesión de comunicaciones III

17. VALOR DE LA PUNCIÓN ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA ENDOSCÓPICA (USE-PAAF) EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS LESIONES MEDIASTÍNICAS

F. Junquera, A. Ginés^a, M. Pellisé^a, M. Solé^b,
G. Fernández-Esparrach^a, L. Barranco^c, M.T. Soria^a, J. Llach^a
y J.M. Bordas^a

Unidad de Endoscopia Digestiva de la Corporació Parc Taulí de Sabadell. ^aUnidad de Endoscopia Digestiva del Institut de Malalties Digestives. ^bServicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínic. Barcelona. ^cServicio de Aparato Digestivo Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

Introducción: La punción aspiración con aguja fina guiada por ultrasonografía endoscópica (USE-PAAF) ha incrementado la rentabilidad diagnóstica de la USE proporcionando la confirmación histológica de las lesiones del tracto digestivo. Sin embargo, su utilidad en el diagnóstico de las lesiones mediastínicas no es bien conocida. El objetivo del estudio fue investigar la precisión diagnóstica de la USE-PAAF en el diagnóstico de las lesiones mediastínicas.

Pacientes y métodos: Se practicó USE-PAAF a 24 pacientes (19 varones y 5 mujeres, con una edad media de 63,5) para el diagnóstico de una lesión mediastínica. Las exploraciones se realizaron bajo sedación con propofol + remifentanilo, utilizando en primer lugar un ecoendoscopio radial (Olympus UM 160), y posteriormente se realizó la punción con un ecoendoscopio sectorial (Olympus UC 30P) + aguja de Wilson Cook de 22G. Se contó con la presencia de citopatólogo en sala de exploración para evaluar las muestras *in situ*. Las indicaciones de la USE fueron las siguientes: estudio de extensión de neoplasia de esófago (n = 6) y de neoplasia de pulmón (n = 9); estudio de masa mediastínica idiopática (n = 5) y estudio de adenopatías mediastínicas idiopáticas (n = 4). Evaluamos el grado de concordancia entre la USE-PAAF y el diagnóstico final. Se utilizaron como *gold standard* los resultados de la pieza quirúrgica o la propia citología en los pacientes no intervenidos (por enfermedad maligna diseminada o por enfermedad benigna subsidiaria de tratamiento médico).

Resultados: La USE-PAAF consiguió el diagnóstico citológico de las lesiones en 22 de 24 pacientes (rentabilidad diagnóstica del 91%). La etiología de las lesiones mediastínicas fue benigna en 15 de los 22 pacientes (68%), incluyendo: tejido linfóide normal (n = 11) tuberculosis ganglionar (n = 2), y lesiones quísticas (n = 2). Los 7 pacientes restantes (32%) presentaron lesiones malignas, incluyendo adenopatías metastásicas (n = 5) y neoplasias primarias (n = 2). El grado de concordancia entre la USE-PAAF y el diagnóstico final fue del 91%. No se produjo ningún falso positivo. El número de pases de punción por lesión fue de $1,8 \pm 1$, y sólo un paciente desarrolló un síndrome febril autolimitado 12 h tras la USE-PAAF.

Conclusión: La USE-PAAF es una técnica eficaz y segura en la evaluación diagnóstica de las lesiones mediastínicas.

18. VALIDACIÓN PROSPECTIVA DE UN MODELO CLÍNICO PREDICTIVO DE DISPEPSIA ORGÁNICA EN EL ÁMBITO DE LA ATENCIÓN PRIMARIA Y DE LAS CONSULTAS DE GASTROENTEROLOGÍA

M. Barenys, R. Rota, V. Moreno^a, R. Villafafila^b,
I. García-Bayo^c, A. Abad, J.M. Balaguer, J.M.V. Pons^d
y J.M. Piqué^c

Hospital de Viladecans. ^aICO. ^bCAP Viladecans II. ^cCAP Gavá. ^dAATM. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Para seleccionar los pacientes con dispepsia candidatos a endoscopia se ha propuesto la utilización de modelos predictivos de síntomas. En un estudio previo realizado por gastroenterólogos obtuvimos mediante análisis multivariante tres escalas de

síntomas con alto valor predictivo para dispepsia orgánica, úlcera péptica y esofagitis.

Objetivo: Validar de forma prospectiva la reproducibilidad de estos tres modelos en el ámbito de atención primaria y de la atención especializada en gastroenterología.

Método: Estudio clínico prospectivo en 230 pacientes del área del hospital de Viladecans (120 de atención primaria y 110 de consulta especializada de gastroenterología) a los que se aplicaron las tres escalas de síntomas a validar. Posteriormente se realizó una endoscopia diagnóstica que clasificó los pacientes en dispepsia orgánica (úlcera, esofagitis o cáncer) o dispepsia funcional. La capacidad discriminante para dispepsia orgánica, úlcera y esofagitis del médico de atención primaria y del gastroenterólogo al aplicar cada una de las tres escalas se calculó mediante el estadístico-c.

Resultados: Las capacidades discriminantes fueron de 0,75 y 0,82 para dispepsia orgánica, 0,78 y 0,86 para úlcera y 0,78 y 0,82 para esofagitis en la consulta de los médicos de atención primaria y para el gastroenterólogo, respectivamente. El punto de corte óptimo que combina la mayor sensibilidad con la mayor especificidad para discriminar dispepsia orgánica subió de 6 a 7 puntos con respecto al estudio inicial tanto para atención primaria como para el gastroenterólogo.

Conclusiones: La confirmación prospectiva de la reproducibilidad y transferibilidad de un modelo predictivo sencillo de dispepsia orgánica en el ámbito de la medicina primaria y de la consulta especializada de gastroenterología, abre la posibilidad de utilizar este tipo de instrumentos para conseguir un abordaje más eficiente de la dispepsia.

19. EFECTIVIDAD DE LA CITOLOGÍA Y DEL ANÁLISIS MUTACIONAL DEL GEN KRAS EN EL MATERIAL OBTENIDO POR PUNCIÓN ASPIRATIVA CON AGUJA FINA GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA ENDOSCÓPICA (USE-PAAF) EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS LESIONES FOCALES PANCREÁTICAS

M. Pellisé, A. Castells, A. Ginés, M. Solé^a, F. Mora^b,
G. Fernández-Esparrach, V. Piñol, S. Castellví-Bel, J. Llach,
S. Navarro, J.M. Bordas y J.M. Piqué

Servicio de Gastroenterología. IMD. ^aServicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Barcelona. ^bServicio de Bioquímica. Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: El cáncer de páncreas sigue siendo una patología de difícil diagnóstico a pesar de los importantes avances en las técnicas de imagen. Dada la elevada frecuencia de mutaciones en el gen *KRAS* que presentan estos tumores, se ha sugerido que la detección de las mismas permitiría aumentar la eficacia de la citología convencional. Recientemente, la USE-PAAF ha demostrado ser una técnica muy eficaz para el diagnóstico de las lesiones focales pancreáticas, desconociéndose la utilidad de la detección de mutaciones de *KRAS* en esta aproximación.

Objetivo: Evaluar la eficacia de la citología convencional y del estudio mutacional del gen *KRAS* en el material obtenido mediante USE-PAAF para el diagnóstico del adenocarcinoma de páncreas.

Pacientes y métodos: Entre septiembre de 2001 y marzo de 2002 se incluyeron 57 pacientes consecutivos con lesiones focales pancreáticas. Los pacientes fueron clasificados en función del diagnóstico definitivo, obtenido en la cirugía o en el seguimiento: el grupo I estaba constituido por 33 pacientes con adenocarcinoma pancreático; el grupo II o control estaba formado por 24 pacientes con tumor intraductal mucinoso papilar (n = 5), tumor neuroendocrino (n = 6), pseudotumor inflamatorio (n = 5), cistoadenoma seroso (n = 4), metástasis (n = 2), cistoadenoma mucinoso (n = 1) y linfoma (n = 1). La exploración se realizó con un ecoendoscopio radial y posteriormente se procedió a la PAAF con un ecoendoscopio lineal. El material obtenido se examinó *in situ* por un citopatólogo. El análisis mutacional del gen *KRAS* se realizó mediante la técnica de RFLP/PCR a partir del líquido de lavado de la aguja.

Resultados: Se obtuvieron un total de 136 muestras: 133 (98%) fueron adecuadas para el diagnóstico molecular mientras que únicamente 67 (49%) lo fueron para el diagnóstico citológico. En relación con el diagnóstico definitivo, ambas aproximaciones tuvieron una especificidad similar (100%), aunque la citología convencional fue superior al análisis mutacional en cuanto a sensibilidad (el 94 frente al 73%) y precisión global (el 96 frente al 84%). La combinación de ambas aproximaciones logró mejorar discretamente estos índices (sensibilidad, 97%; precisión global: 98%).

Conclusión: Estos resultados demuestran que es posible efectuar el análisis mutacional de *KRAS* en el material obtenido por USE-PA-AF, con una elevada rentabilidad. Sin embargo, la citología convencional es la estrategia más precisa para el diagnóstico del cáncer de páncreas, pudiendo el análisis molecular incrementar su rendimiento en los pocos casos en los que la primera no es diagnóstica.

20. EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LOS MECANISMOS DE CONTROL DEL TONO BASAL, RELAJACIÓN Y CONTRACCIÓN DEL ESFÍNTER ANAL INTERNO

R. Farré, E. Martínez, J. Martí-Ragué y P. Clavé

Fundació de Gastroenterologia Dr. Francisco Vilardell. Grupo de Estudio de la Motilidad Digestiva. Departamento de Fisiología Animal. Universidad Autónoma de Barcelona.

El tono basal, la relajación y la contracción del esfínter anal interno (EAI) están controlados por factores miogénicos y neurogénicos poco conocidos que participan en la fisiopatología de la incontinencia fecal y de la fisura anal.

Objetivo: Evaluar los mecanismos miogénicos y neurogénicos de control del tono basal, la relajación y la contracción del EAI.

Métodos: Baño de órganos, estudio mediante transductores isométricos de tensión de tiras circulares (3 × 10 mm) de EAI de 10 cerdos adultos. Diseño experimental: 1) Modulación farmacológica del tono basal. 2) Caracterización mediante antagonistas específicos de los NT excitatorios e inhibitorios liberados por la estimulación de las motoneuronas del plexo mientérico (PM) mediante estimulación eléctrica de campo (EEC).

Resultados: 1) Tono basal. Las tiras de EM desarrollan un tono activo de $6,12 \pm 2,14$ g (n = 25; n = 10) que disminuye significativamente en un medio sin Ca^{++} ($-2,00 \pm 0,42$ g) y en presencia de nifedipina ($-1,90 \pm 0,21$ g). El tono basal no se modifica ni por la neurotoxina tetrodotoxina (TTX), ni por los antagonistas ODQ, apamina, atropina, fentolamina, ni propanolol. El nitroprusiato de sodio (SNP) 10^{-6} M y el ATP 10^{-3} M relajan las tiras de EAI de forma insensible a la TTX. El ODQ bloquea específicamente la relajación inducida por SNP y la apamina bloquea específicamente la relajación inducida por ATP. 2) Relajación y contracción por EEC. La estimulación de las motoneuronas del PM mediante EEC origina una relajación en *on* durante el estímulo y una contracción en *off* al finalizar el estímulo cuya amplitud varía con la frecuencia de estimulación. La máxima estimulación de las motoneuronas inhibitorias ($-5,95 \pm 0,7$ g) se observa a 5 Hz, y la máxima estimulación de las excitatorias a 40 Hz ($+7,95 \pm 1,13$ g). La TTX bloquea ambas respuestas en todo el rango de frecuencias. El ODQ inhibe la relajación por EEC, la atropina y la fentolamina aumentan la relajación residual, sobre la que no tienen efecto ni la apamina ni el propanolol. El ODQ aumenta la amplitud de la contracción inducida por EEC y la convierte en una *on*, contracción que se bloquea mediante la adición secuencial de atropina y fentolamina.

Conclusiones: 1) El tono basal del EAI es miogénico, depende de la entrada de calcio extracelular a través de canales de Ca^{++} tipo-L y no está sometido a influencias neurales tónicas significativas del PM. 2) La relajación del EAI depende de la activación de motoneuronas inhibitorias que liberan NO, y un segundo neurotransmisor no identificado que no es ni purinérgico ni β -adrenérgico. 3) La contracción del EAI se debe a la activación de motoneuronas colinérgicas que actúan sobre receptores muscarínicos y de motoneuronas adrenérgicas que actúan sobre receptores α .

21. LAS CÉLULAS HEPÁTICAS ESTRELLADAS EXPRESAN LAS MOLÉCULAS NECESARIAS PARA LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS Y ESTIMULACIÓN DE LINFOCITOS T, Y INTERNALIZAN MATERIAL EXTRACELULAR

P. Sancho-Bru¹, O. Viñas², R. Bataller¹, P. Ginès¹, J. Colmenero¹, C. Berenguer², C. Enrich³, J.M. Nicolás⁴, G. Ercilla², T. Gallart², J. Vives², V. Arroyo¹ y J. Rodés¹

¹Liver Unit ²Laboratory of Immunology, and ³Department of Cell Biology and ⁴Department of Internal Medicine, Hospital Clínic, University of Barcelona School of Medicine, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi-Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Catalonia, Spain.

Las células hepáticas estrelladas (HSC) activadas expresan moléculas de adhesión y secretan citocinas proinflamatorias participando en el reclutamiento de células inflamatorias. No obstante, se desconoce si estas células podrían jugar un papel en la presentación de antígenos y la activación de linfocitos T.

Objetivos: Investigar si las HSC son capaces de internalizar macromoléculas, estudiar la expresión de las moléculas necesarias para la presentación de antígenos y si inducen la estimulación alógena de linfocitos T.

Métodos y resultados: Las HSC fueron aisladas de hígados sanos y se estudiaron después de su activación *in vitro*. Las HSC internalizan dextrano de bajo peso molecular mediante endocitosis por fase fluída y dextrano de alto peso molecular y transferrina mediante endocitosis mediada por receptor. Además las HSC fagocitan bacterias opsonizadas y bolas de látex de 1 micra de diámetro. La expresión de proteínas de membrana implicadas en la presentación de antígenos fue valorada mediante citometría de flujo. Las HSC expresan miembros de la familia de antígenos leucocitarios humanos (HLA) de clase I y HLA de clase II, así como moléculas coestimuladoras de linfocitos T CD80 y CD40. Además las HSC expresan los subgrupos de la familia CD1, CD1b y CD1c implicados en la presentación de antígenos lipídicos. Las HSC expresan también el marcador de macrófagos CD68 implicado en la circulación de vesículas endocíticas. La incubación de las HSC con citocinas (IL-1 β y IFN- γ) sobrerregula significativamente la expresión de HLA, CD80 y CD40. Finalmente, se estudió si las HSC son capaces de estimular la proliferación de linfocitos T mediante un ensayo de incorporación de timidina. En condiciones basales, el cultivo mixto de HSC irradiadas y linfocitos T alógenos no indujo una respuesta proliferativa de los linfocitos T, sin embargo, cuando las HSC fueron estimuladas con citocinas se indujo una activación de los linfocitos T dependiente de HLA-II.

Conclusiones: Las HSC activadas internalizan macromoléculas y microorganismos y expresan las moléculas necesarias para la presentación clásica de antígenos dependiente de HLA-II y no clásica vía la expresión de moléculas de la familia CD1. Las HSC inducen la activación alógena de linfocitos T dependiente de HLA-II. Estos resultados sugieren que las HSC pueden actuar como células presentadoras de antígenos y participar en la función inmunológica del hígado.

22. LA PRESENCIA DE ALTERACIONES REVERSIBLES DE LA VÍA CORTICOESPINAL EN LA CIRROSIS SUGIERE LA PARTICIPACIÓN DEL EDEMA CEREBRAL LEVE EN LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

M. Ortiz, J. Córdoba, N. Ragué*, A. Rovira**, J. Alonso**, R. Esteban y J. Guardia

*Servicios de Hepatología y de *Neurofisiología Clínica. **Unidad de Resonancia Magnética. Hospital Vall d'Hebron. Universidad Autónoma de Barcelona.*

En un estudio previo describimos mediante resonancia magnética (RM) hiperintensidad T2 a lo largo de la vía corticoespinal en la cirrosis hepática, que parece corresponder a edema cerebral leve a lo largo de esta vía. Una hipótesis reciente ha propuesto que la encefalopatía hepática es la consecuencia de la disfuncional neuronal ocasionada por el edema astrocitario.

Objetivo: Estudiar las consecuencias funcionales del edema a lo largo de la vía corticoespinal para estudiar la posible participación del edema cerebral leve en la encefalopatía hepática (EH).

Sujetos: Cirrosis hepática (Child A/B/C: 3/11/6) con examen neurológico normal y sin EH (n = 20), antes y 6 meses después de trasplante hepático (n = 14) y grupo control sano (n = 9).

Métodos: Estudio neurofisiológico de la vía corticoespinal con estimulación magnética transcortical con determinación de la amplitud del potencial motor (APM), tiempo de conducción central (TCC) y umbral necesario para inducir un potencial motor (UI); RM con cuantificación de la señal T2 en la vía corticoespinal mediante FLAIR y estimación del agua cerebral mediante el índice de transferencia de magnetización (ITM).

Resultados: Los pacientes con cirrosis (tabla) mostraron disminución de la función de la vía corticoespinal (disminución de la APM, prolongación del TCC, incremento del UI), hiperintensidad T2 y edema cerebral leve en la vía corticoespinal compatibles (disminución del ITM). Estas alteraciones fueron reversibles después del trasplante hepático. El grado de mejoría de la función corticoespinal se correlacionó con el grado de mejoría de las alteraciones de la RM (T2-FLAIR frente a TCC: R = 0,8; p = 0,007; T2-FLAIR frente a APM: R = 0,5; p = 0,07).

	Grupo 1 Control	Grupo 2 Cirrosis	Grupo 3 Postrasplante	p < 0,05
APM (%)	0,49 ± 0,1	0,36 ± 0,1	0,48 ± 0,1	2 frente a 1,3
TCC (msc)	6,4 ± 0,8	8,3 ± 2,2	7,3 ± 0,9	1 frente a 2
UI (%)	54 ± 4	67 ± 15	52 ± 8	2 frente a 1,3
ITM	37,2 ± 0,4	31,6 ± 2	36 ± 0,8	2 frente a 1,3

Conclusión: Los pacientes con cirrosis hepática presentan signos compatibles con edema cerebral leve y alteraciones subclínicas de la función de la vía corticoespinal que revierten después del trasplante hepático. Estos resultados apoyan la hipótesis que propone que el edema astrocitario causa alteraciones en la función neuronal y la participación del edema cerebral leve en la patogénesis de la encefalopatía hepática.

23. INCIDENCIA DE ADENOCARCINOMA GÁSTRICO EN LA POBLACIÓN DE TERRASSA (1996-2001)

M. Forné, J. Boadas, F. Fernández-Bañares, I. Jurado*, M. Esteve, J. Ortiz, J.O. Espinós, A. Salas* y J.M. Viver
Servicios de Digestivo y *Anatomía Patológica. Hospital Mútua de Terrassa y Hospital de Terrassa.

En la Unión Europea la incidencia de adenocarcinoma gástrico (AG) se ha reducido en los últimos años. En España la incidencia ajustada estimada es de 17,8 casos/100.000 habitantes en varones y de 8,4 casos en mujeres. Estas cifras engloban todos los carcinomas gástricos, pero existen pocos datos sobre la estirpe histológica y sobre la localización del tumor, no existiendo datos recientes en nuestra zona.

Objetivo: Estudiar la incidencia de AG en el área de Salud de la ciudad de Terrassa, en el período de tiempo comprendido entre 1996 y 2001.

Método: En el área de Salud de la población de Terrassa –de tipo urbano– existen dos hospitales donde se localizan los únicos servicios de Endoscopia y Anatomía Patológica del área. Los datos de población por grupos de edad y sexo fueron obtenidos de los censos de población de 1996 a 2001, proporcionados por el Ayuntamiento de Terrassa. Se identificaron todos los diagnósticos de AG del registro informatizado de tumores de los servicios de Anatomía Patológica de ambos hospitales. Se calcularon las incidencias brutas y las ajustadas por edad, utilizando como referencia la población mundial (TA). Se utilizó la clasificación de Lauren para tipificar la estirpe histológica. Los casos diagnosticados que no correspondían a la población de Terrassa fueron desechados.

Resultados: Se registraron 302 casos de AG, de los que 174 correspondían al área Terrassa. Esta cifra supone una incidencia bruta de 16,7 casos por 100.000 habitantes y año (IC del 95%, 14,3-19). La

incidencia en los varones fue de 21,6 y en las mujeres de 12,2, con una edad media de 68 ± 14 y 71 ± 15, respectivamente. La incidencia según la clasificación de Lauren fue: intestinal 8,2 casos, difuso 6,3 casos y mixto 2,1 casos/100.000 habitantes. Localización: tercio inferior gástrico (42,7%), tercio medio (26,3%), tercio superior (15,2%), múltiple (7%), linitis (11%). La TA por edad fue de 8,93 (población mundial) casos por 100.000 habitantes y año. La tasa bruta en los diferentes años del período estudiado fue similar.

Conclusiones: La incidencia bruta de AG y la ajustada por edad en el área de Terrassa es de 16,7 y 8,93 casos/100.000 habitantes y año, respectivamente. En el contexto español representa una área de baja incidencia de cáncer gástrico.

24. VALOR TERAPÉUTICO DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD) EN LA ENFERMEDAD DE CROHN EXPERIMENTAL

J. Seguí*, M. Gironella*, S. Granell**, M. Sans*, D. Closa**, F. Gil*, M. Peñalva*, J.M. Piqué* y J. Panés*

*Servicio Gastroenterología. Hospital Clínic. **CSIC. Patología Experimental. IDIBAPS. Barcelona.

Introducción: Los radicales libres se han implicado en la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal. La SOD es una enzima antioxidante que cataliza la reducción del anión superóxido a peróxido de hidrógeno.

Objetivo: Analizar el valor terapéutico de suplementos de SOD en un modelo experimental de colitis inducida por TNBS.

Material y métodos: En ratas Sprague-Dawley se indujo colitis mediante administración intracolónica de TNBS. Diferentes grupos de animales recibieron tratamiento con SOD a dosis de 4 o 13 mg/kg/día, o salino, s.c. durante 7 días. Se evaluó el efecto de este tratamiento sobre el curso clínico de la colitis, lesiones de inflamatorias del colon (*score Appleyard*), actividad MPO y reclutamiento de leucocitos (microscopia intravital)

Resultados: La inducción de colitis se siguió de una significativa pérdida de peso en los animales tratados con salino, que fue significativamente atenuada, de forma dependiente de la dosis por el tratamiento con SOD (SOD_{13 mg/kg}: +4,4 ± 4,8 g^{a,b}; SOD_{4 mg/kg}: -30,9 ± 7; salino: -37,9 ± 5). Asimismo, resultó significativamente atenuado de forma dependiente de la dosis en respuesta al tratamiento con SOD la actividad MPO (SOD₁₃: 14 ± 5 mμ/mg proteína^a; SOD₄: 19,2 ± 2; salino: 38,2 ± 6), la gravedad de las lesiones inflamatorias (*score Appleyard*: SOD₁₃: 4,1 ± 0,7^{a,b}; SOD₄: 7,5 ± 0,8^a; salino: 7,3 ± 0,7; p < 0,05), rodamiento de leucocitos hacia el intestino inflamado (SOD₁₃: 0,6 ± 0,1 células/min^a; SOD₄: 0,7 ± 0,1; salino: 1,5 ± 0,4) y adhesión leucocitaria (SOD₁₃: 1,6 ± 0,1 células/100 nm^a; SOD₄: 2,1 ± 0,3; salino: 3,0 ± 0,5). ^ap < 0,05 frente a salino; ^bp < 0,05 frente a SOD₄.

Conclusión: El tratamiento con SOD tiene un potente efecto antiinflamatorio, dependiente de la dosis, en la colitis experimental. Este efecto está mediado, al menos en parte, por una disminución del reclutamiento de leucocitos circulantes.