

# COMUNICACIONES ORALES

## Sesión general 1

Moderadores: José Castellote. (Barcelona). Jose Luis Montero. (Badajoz)

### DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR < 20 MM. EVALUACIÓN PROSPECTIVA DE LOS CRITERIOS NO INVASIVOS BASADOS EN RESONANCIA MAGNÉTICA Y ECOGRAFÍA CON CONTRASTE

A. Forner<sup>1</sup>, R. Vilana<sup>2</sup>, C. Ayuso<sup>2</sup>, L. Bianchi<sup>2</sup>, M. Sole<sup>3</sup>, J.R. Ayuso<sup>2</sup>, M. Sala<sup>1</sup>, M. Varela<sup>1</sup>, J.M. Llovet<sup>1</sup>, C. Bru<sup>2</sup> y J. Bruix<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>BCLC. Servicio de Hepatología. IMDiM. <sup>2</sup>BCLC. Servicio de Radiología. CDI. <sup>3</sup>BCLC. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clinic, Universidad de Barcelona, España

**Objetivos.** Evaluar prospectivamente el rendimiento de la ecografía con contraste (CE-US) y la RM dinámica (RM) para el diagnóstico de nódulos  $\leq 20$  mm detectados durante una ecografía de screening en pacientes cirróticos y validar los criterios no invasivos de diagnóstico de carcinoma hepatocelular (CHC) propuestos por la AASLD.

**Pacientes/métodos.** Se incluyeron cirróticos Child A-B sin antecedentes de CHC en los que se detectó mediante US un nódulo único de 5-20 mm. El estudio basal consistió en RM con gadolinio (G. E; Signa Horizon LX-CV/i, 1.5T), ecografía abdominal con contraste (SonoVue<sup>®</sup>, Bracco, Milan) y biopsia y/o punción-aspiración con control ecográfico. El resultado histológico se consideró el patrón de oro y la biopsia se repitió hasta tres veces si no obtenía un diagnóstico concluyente. En aquellos pacientes en los que no se demostraba CHC se realizó un seguimiento mediante CE-US/3 meses y RM/6 meses para descartar malignidad. Captación intensa de contraste en fase arterial seguida de lavado ("washout") en fase venosa se consideró concluyente de CHC, mientras que captación intensa arterial, independientemente de la presencia de lavado, fue considerado sospechoso de CHC.

**Resultados.** 84 pacientes fueron incluidos (edad media 64 años, 50 hombres, 64 VHC+, 73 Child A). El diagnóstico final fue CHC en 57 casos, colangiocarcinoma en 1 caso y nódulo benigno (regenerativo/dislásico, hemangioma e hiperplasia nodular focal) en 26 casos. Éstos últimos fueron seguidos durante una mediana de 20 meses (rango 3-37 meses) para asegurar su naturaleza benigna. No hubo diferencias significativas en sexo, etiología de la cirrosis y niveles basales de AFP entre los pacientes con CHC y los pacientes con nódulos benignos. Los nódulos diagnosticados como CHC fueron significativamente más grandes que los benignos ( $P < 0,001$ ). La primera biopsia fue falsamente negativa en 18/57 casos de CHC (31,6%). El rendimiento de la CE-US y de la RM se resume en la siguiente tabla:

		Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CE-US	Sospechoso	79%	88%	92%	66%
	Concluyente	52%	96%	93%	49%
RM dinámica	Sospechoso	81%	92%	95%	67%
	Concluyente	58%	96%	97%	50%
Ambas técnicas	Sospechoso	63%	100%	100%	54%
	Concluyente	30%	100%	100%	40%

Considerando el criterio concluyente, la CE-US y la RM registraron dos y un resultado falso positivo, respectivamente.

**Conclusiones.** El diagnóstico de CHC puede establecerse en nódulos  $\leq 20$  mm sin necesidad de una biopsia positiva si CE-US y RM son diagnósticas de CHC. El uso de una única técnica puede dar lugar a resultados falsos positivos en una minoría de casos, lo que apoya el beneficio de usar una segunda prueba de imagen de confirmación. La ausencia de captación en fase arterial no descarta el

diagnóstico de CHC y se recomienda la realización de una biopsia, aunque hay que tener en cuenta una tasa de falsos negativos cercana al 32%. Los resultados de este estudio validan los criterios diagnósticos no invasivos propuestos por la AASLD.

### EFFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIVIRAL SOBRE LA PROGRESIÓN DE LA HEPATITIS C TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO: ESTUDIO CONTROLADO Y ALEATORIZADO

J.A. Carrión, M. Navasa, M. García-Retortillo, J.C. García-Pagan, G. Crespo, M. Bruguera, J. Bosch y X. Forns  
Servicio de Hepatología, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona. España

La recurrencia de la hepatitis C es el principal problema de los programas de trasplante hepático (TH). Nuestro estudio ha evaluado el efecto del tratamiento antiviral en la progresión de la hepatitis C en 81 receptores de TH infectados por el virus de la hepatitis C (VHC). Los pacientes con recurrencia leve de la hepatitis C (F0-F2, n = 54) fueron aleatorizados a un grupo sin tratamiento (Grupo A, n = 27) o a un grupo que recibió interferón pegilado alfa-2b/ribavirina durante 48 semanas (Grupo B, n = 27). Los pacientes con recurrencia severa (F3-F4, hepatitis colestásica) recibieron tratamiento antiviral (Grupo C, n = 27). En todos los pacientes (n = 81) se realizó una biopsia basal y al final del seguimiento; se determinó el gradiente de presión portal (GPP) basal y al final del seguimiento en 51 pacientes. En 13 (48%) pacientes del Grupo B y en 5 (18,5%) del Grupo C se alcanzó respuesta viral sostenida (RVS). En 40 (49%) de los 81 pacientes se constató progresión de la fibrosis hepática ( $\geq 1$  estadio): en 19 (70%) del Grupo A frente a 7 (26%) del Grupo B ( $p = 0,001$ ) y en 14 (54%) del Grupo C. El GPP se incrementó (6,5 a 13 mmHg,  $p < 0,01$ ) en pacientes con progresión de la fibrosis y descendió (5 a 3,5 mmHg,  $p = 0,017$ ) o se mantuvo estable en aquellos en los que se constató mejoría o estabilización de la fibrosis, respectivamente. La única variable asociada de forma independiente a la mejoría/estabilización de la fibrosis hepática fue el tratamiento antiviral (OR = 3,7 95% CI: 1,3-10,  $p = 0,009$ ). En los pacientes que recibieron tratamiento antiviral, la respuesta bioquímica y la respuesta virológica precoz se asociaron de forma independiente a la mejoría/estabilización de la fibrosis y del GPP (OR: 5,3, 95% CI: 1,5-18,  $p < 0,01$ ; OR: 7,4, 95% CI: 1,4-38,  $p = 0,01$ , respectivamente). Estos resultados demuestran que en receptores de TH con recurrencia de la hepatitis C, la eliminación del VHC durante o tras el tratamiento retrasa la progresión de la enfermedad. Estos resultados se ven reforzados por la buena concordancia entre los cambios en la fibrosis hepática y el GPP.

### ANÁLISIS DE LA COMPARTIMENTALIZACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) Y SU RELACIÓN CON LA RECIDIVA DE LA INFECCIÓN TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

S. Ramírez\*, A. Massaguer\*, J.A. Carrión\*, J. Costa\*\*, J.M. Sánchez-Tapias\*, J.C. García-Valdecasas\* y X. Forns\*  
\*Servicio de Hepatología, Hospital Clínic, Institut de Malalties Digestives, IDIBAPS. \*\*Servicio de Microbiología, Hospital Clínic, IDIBAPS.

Diversas evidencias sugieren que el VHC podría infectar compartimentos extrahepáticos, pero se desconoce su papel en la recurren-

cia de la infección tras el tratamiento antiviral y el trasplante hepático (TH). El objetivo de este estudio es determinar si el VHC está compartimentalizado y analizar si su presencia en compartimentos extrahepáticos tiene relación con la recidiva de la infección tras el TH. Para ello se ha seleccionado una cohorte de 56 pacientes infectados por el VHC sometidos a TH; 43 pacientes (77%) se trasplantaron con ARN-VHC detectable en suero (rango: 5 UI/ml-3x10<sup>6</sup> UI/ml) y 13 (23 %) con ARN-VHC indetectable (tras recibir tratamiento antiviral). Se cuantificó el ARN-VHC y se secuenció la región HVR-1 en muestras de suero, células mononucleares de sangre periférica (CMP), ganglios perihepáticos e hígado (explante) obtenidas durante el TH y en muestras de suero y CMP recogidas en diferentes puntos del seguimiento post-TH. En los 43 pacientes con ARN-VHC positivo en suero, se detectó ARN-VHC en el 81%, 78% y 98% de muestras correspondientes a CMP, ganglios perihepáticos y explantes, respectivamente. En los 13 pacientes con ARN-VHC no detectable, la proporción de muestras positivas fue del 15%, 17% y 38% para CMP, ganglios perihepáticos y explante, respectivamente. La infección recidivó en 4 de estos 13 pacientes y en todos ellos se detectó ARN-VHC en el explante. Sin embargo, la presencia de ARN-VHC en CMP y ganglios perihepáticos (pero no en el explante) en 2 pacientes no se asoció a recidiva. En un 40% de individuos, las secuencias consenso de la región HVR-1 del virus aislado en suero, CMP, ganglios y explante fueron diferentes. Estos resultados indican que el VHC está compartimentalizado y sugieren que algunas cepas presentes en tejidos extrahepáticos no estarían adaptadas para infectar el injerto. En los pacientes en tratamiento antiviral y ARN-VHC indetectable en suero, la presencia de ARN-VHC residual en el explante podría ser un marcador de recidiva tras el TH.

#### EFEECTO DEL TRATAMIENTO CON LOSARTAN SOBRE LA FIBROGÉNESIS HEPÁTICA EN LA HEPATITIS CRÓNICA C

J. Colmenero, R. Bataller, X. Forns, P. Sancho-Bru, M. Bruguera, M. Dominguez, M. Moreno, V. Arroyo y P. Ginès  
*Servicio de Hepatología, Institut Clínic de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona.*

En la actualidad no se dispone de tratamientos antifibrogénicos para los pacientes con hepatitis crónica C en los que el tratamiento antiviral no ha sido efectivo. Se ha propuesto el uso de los antagonistas del receptor tipo 1 de la angiotensina II (ARA-II), pero su efecto sobre la fibrogénesis hepática en humanos es desconocido. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del losartan, un ARA-II, sobre la fibrogénesis hepática en con hepatitis crónica C.

**Métodos.** Catorce pacientes con hepatitis crónica C y fibrosis significativa (F2-F4) fueron tratados con losartan por vía oral (50 mg/día) durante 18 meses. Se realizó dos biopsias hepáticas, una antes de iniciar el tratamiento y otra tras finalizar el mismo. El grado de fibrosis fue evaluado mediante marcadores séricos (TIMP1, ácido hialurónico, TGFbeta-1 y PIIIP) y mediante estudio histológico. La fibrogénesis hepática fue evaluada mediante análisis cuantitativo de la expresión hepática de genes involucrados en la síntesis de la matriz extracelular hepática y de genes de citoquinas pro-inflamatorias.

**Resultados.** El Losartan disminuyó ligeramente la presión arterial y fue bien tolerado por todos los pacientes. La actividad renina plasmática y los niveles plasmáticos de angiotensina II se incrementaron durante el estudio. No se observó cambios en los exámenes de laboratorio de función hepática ni en la carga viral. Los marcadores séricos de fibrosis no disminuyeron significativamente. En siete pacientes (50%) se apreció una disminución de al menos un grado de fibrosis en la escala METAVIR. Asimismo, se observó una disminución significativa de la actividad inflamatoria tipo "piecemeal". El tratamiento con losartan se acompañó de un descenso significativo de la expresión génica de genes involucrados en la fibrogénesis hepática, incluyendo los procolágenos 1( $\alpha$ )I y 4( $\alpha$ )I, el activador del plasminógeno tipo urokinasa (ut-PA), Rac-1

y MMP-2. Además, los pacientes con mejoría de la actividad inflamatoria tipo "piecemeal" presentaron una reducción de la expresión génica de TIMP-1 y de citoquinas pro-inflamatorias (MCP-1 y Gro-alpha).

**Conclusiones.** El tratamiento con losartan por vía oral durante 18 meses reduce la fibrogénesis hepática en los pacientes con hepatitis crónica C. Dicho efecto se acompaña de una reducción del grado histológico de fibrosis en la mitad de ellos y de la reducción de la actividad inflamatoria. Estos datos apoyan la realización de estudios randomizados controlados para determinar la eficacia antifibrogénica de los ARA-II en la hepatitis crónica C.

#### NUEVOS CRITERIOS DE PRIORIZACIÓN PARA EL ACCESO AL TRASPLANTE HEPÁTICO EN ANDALUCÍA BASADOS EN EVALUACIÓN DE RESULTADOS (2004-2006)

N. Cuende<sup>a</sup>, M. de la Mata<sup>b</sup>, J.A. Ferrón<sup>c</sup>, M.A. Gómez Bravo<sup>d</sup>, J. Huet Ruiz-Matas<sup>a</sup>, P. López-Cillero<sup>b</sup>, R. Martín-Vivaldi<sup>c</sup>, J.M. Pascasio<sup>d</sup>, J. Rodrigo<sup>c</sup>, J. Santoyo<sup>c</sup> y M. Alonso<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Coordinación Autonómica de Trasplante de Andalucía, <sup>b</sup>Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba), <sup>c</sup>Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada), <sup>d</sup>Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla), <sup>e</sup>Hospital Universitario Carlos Haya (Málaga).

**Introducción.** En Andalucía (año 2002), los cuatro Equipos de Trasplante Hepático (TH) con la colaboración de la Coordinación Autonómica de Trasplantes, establecieron unos criterios comunes para la gestión de la lista de espera (LE) de TH. Se acordó priorizar en una LE preferente local a los pacientes con mayor grado de insuficiencia hepática (IH) según su puntuación MELD y a aquellos con hepatocarcinoma (HC), que cumplieran con los criterios de Milán. Si al cabo de 3 (IH) o 6 meses (HC) los pacientes no eran trasplantados con donante local, pasaban a una LE preferente común (LEPC) con prioridad regional en Andalucía.

**Objetivo.** Actualizar los criterios de priorización mediante la evaluación de los resultados de la LE.

**Material y métodos.** Se ha analizado la evolución de todos los pacientes de Andalucía que estuvieron en la LE en los años 2004 y 2005 (n = 506), con seguimiento hasta julio de 2006. Se ha calculado el porcentaje de fallecidos y excluidos por progresión de enfermedad y la supervivencia con el método de Kaplan-Meier de los pacientes en LE según su código en LE y según el diagnóstico principal. En el caso de las IH se han calculado los mismos parámetros, según la puntuación MELD, así como la Curva ROC para distintas puntuaciones MELD y para el tiempo en LE.

**Resultados.** El porcentaje de pacientes fallecidos o excluidos por progresión de enfermedad fue del 10,5% para los pacientes en LE electiva, del 20,2% en LEPL y del 3,7% en LEPC. La supervivencia fue significativamente inferior en el caso de los pacientes en LEPL (p < 0,05). Dentro de esta LE, los pacientes con IH tuvieron un riesgo de progresión o mortalidad del 21% frente al 9,1% en los HC y al 5,6% en el grupo de otras enfermedades (p < 0,05). Entre los pacientes con IH y una puntuación MELD de 10 no hubo ningún caso de mortalidad o progresión de enfermedad, incrementándose gradualmente este riesgo que supera el 17% a partir de los 15 puntos y el 40% con puntuaciones de 24 o superiores. El área bajo la curva ROC para la puntuación MELD fue del 70,5% y para el tiempo en LE fue del 37,5%.

**Conclusiones.** El tiempo en LE no predice el riesgo de mortalidad o exclusión de LE por progresión de la enfermedad en las IH, a diferencia de la puntuación MELD. Según los resultados obtenidos los nuevos criterios de priorización son: 1. Para acceder a LE electiva, las IH deberán tener una puntuación MELD  $\geq$  11. 2. Accederán a LEPL los pacientes con IH con una puntuación MELD  $\geq$  15 y los HC uninodulares  $\geq$  3 cm. o multinodulares (con puntuación equivalente al MELD 15). 3. El acceso a la LEPC se producirá al cabo de 3 meses de estar en LEPL en el caso de IH con puntuaciones MELD entre 15 y 23 y de forma inmediata si la puntuación es  $\geq$  24. Los HC accederán tras 6 meses en LEPL.

**INFLUENCIA DE LA PROFILAXIS ANTIBIÓTICA EN EL RIESGO DE DESARROLLAR INFECCIONES QUIRÚRGICAS EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPÁTICO**

A. Ramos, V. Cuervas-Mons, A. Asensio, J. Gavaldá, F. López<sup>a</sup>, Y. Quijano<sup>a</sup>, J.M. Cisneros<sup>a</sup>, V. Sánchez Turrión, E. Muñoz, M. Jiménez e I. Baños

Hospital Universitario Puerta de Hierro. Universidad Autónoma de Madrid. RESITRA<sup>a</sup> (Red Española de Infección y Trasplante)

**Introducción.** La profilaxis antibiótica en cirugía es un procedimiento de utilidad demostrada para prevenir las infecciones quirúrgicas (IQ). No existe un régimen óptimo de profilaxis antibiótica en pacientes sometidos a trasplante hepático que sea aceptado por la mayoría de los hospitales

**Métodos.** Estudio prospectivo de una cohorte de 1012 pacientes con trasplante hepático consecutivos realizados en varios hospitales españoles integrados en la red de investigación RESITRA. Setecientos treinta y seis pacientes eran varones (72,9%) y el rango de edad era de 10 a 71 años (media 54 años). Se evaluó el riesgo de desarrollar IQ en función del tipo de profilaxis antibiótica empleada. Se realizó un control de potenciales variables de confusión mediante un análisis multivariante.

**Resultados.** Un total de 174 episodios de IQ fueron observadas en 140 pacientes (13,8%) cuya mediana temporal de aparición fue de 21,5 días postrasplante. Los principales tipos de infecciones fueron colangitis (37%) infección de la herida quirúrgica (29%), peritonitis (14%), absceso hepático (10%) y absceso intraabdominal (10%). Las infecciones quirúrgicas fueron más frecuentes en varones (14%) que en mujeres (11%,  $p = 0,220$ ), alcanzando un valor del 10% en pacientes en estadio A de Child, 13% en los de estadio B y del 15 % en los de estadio C ( $p = 170$ ). Los organismos responsables de la infección en los 104 casos con documentación microbiológica fueron *Enterococcus faecium* (22%), *Escherichia coli* (20%), *Acinetobacter baumannii* (16%), *Candida* spp (9%), *Staphylococcus aureus* (8%), *Staphylococcus coagulasa* negativa (7%), *Enterobacter* spp (4%), *Klebsiella pneumoniae* (3%). La mortalidad relacionada con este tipo de infecciones fue del 9,3%. En el análisis multivariante el empleo de cefazolina (OR 3,2; 95% CI, 1,9-5,5%) junto a la derivación colédocoyeyunal o hepáticoyeyunal (OR 5,0; 95% CI, 2,0-10,0) y a los requerimientos transfusionales intraoperatorios de hemáties (OR 1,03; 95% CI, 1,0-1,1) se asociaron con un mayor riesgo de desarrollar una IQ.

**Conclusiones.** La cefazolina no debe ser empleada como único agente en la profilaxis antibiótica para prevenir IQ en pacientes con trasplante hepático. Los pacientes sometidos a colédocoyeyunostomía o hepáticoyeyunostomía podrían necesitar un tipo de profilaxis con mayor cobertura o más prolongada dado su mayor riesgo de desarrollar IQ.

**TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS C RECURRENTE TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO: RESULTADOS SIMILARES INDEPENDIENTEMENTE DEL TIPO DE INTERFERÓN PEGILADO EMPLEADO**

A. Palau<sup>a</sup>, V. Malo, V. Aguilera, M. Prieto y M. Berenguer

<sup>a</sup>Servicio de Digestivo Hospital General de Castellón. Servicio de Digestivo Hospital La Fe. Valencia.

El tratamiento de la hepatitis C recurrente ha mejorado desde el empleo de interferón pegilado y ribavirina.

**Objetivos.** Analizar si el resultado de la terapia antiviral en la hepatitis C recurrente difiere con interferón Pegilado-alfa-2a vs interferón Pegilado-alfa-2b combinados con ribavirina.

**Métodos.** Analizamos datos preliminares de este estudio prospectivo randomizado comparando eficacia (respuesta viral sostenida (RVS)) y tolerancia (interrupción-retirada de tratamiento, reducción de dosis de interferón/ribavirina, uso factores de crecimiento) durante tratamiento con ribavirina + pegIFNalfa2a ( $n = 27$ ) o 2b ( $n = 19$ ). Sólo se analizan pacientes que han finalizado el seguimiento.

**Resultados.** 40 (87%) VHC genotipo-1. La RVS en 44% (11/27 con pegIFNalfa2a vs 10/19 con pegIFNalfa2b; pNS, ver-tabla). De los posibles factores predictivos de RVS analizados (sexo, edad, terapia antiviral pretrasplante, inmunosupresión de inducción, alcohol, Child-Pugh y carcinoma hepatocelular al momento del trasplante, rechazo y tratamiento, gravedad hepatitis a inicio tratamiento, análisis laboratorio, índice masa corporal(IMC) y carga viral antes del tratamiento, tipo y duración terapia antiviral, tiempo desde trasplante hasta tratamiento, reducciones de interferón/ribavirina, factores crecimiento, respuesta viral precoz (RVP) mes 1 y 3; sólo la carga viral pretratamiento y la RVP al 3 mes fueron predictores de RVS ( $p = 0,01$  y  $0,004$ , respectivamente). Duración del tratamiento ( $p = .07$ ) e IMC al inicio del tratamiento ( $p = 0,08$ ) se asociaron con mejor respuesta pero sin alcanzar significación estadística.

	RVP3Mes	RBS	RVS	D/C	Reducciones-dosis
PegIFNalfa2a (n = 27)	78%	30%	41%	50%	52%
PegIFNalfa2b (n = 19)	77%	47%	52,5%	53%	42%

RBS = respuesta bioquímica sostenida; D/C = interrupción-retirada

**Conclusiones.** Un porcentaje sustancial de trasplantados hepáticos VHC-1b tratados con pegIFN+ribavirina eliminan el VHC independientemente del tipo de pegIFN. La ausencia de RVP es altamente predictiva de no respuesta al tratamiento.

## Sesión general 2

Moderadores: José Luis Calleja. (Madrid). Angeles Escorsell. (Barcelona)

### META-ANÁLISIS DEL VALOR DEL GRADIENTE DE PRESIÓN VENOSA HEPÁTICA (GPVH) PARA MONITORIZAR LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL

M. González<sup>a</sup>, C. Ripoll<sup>b</sup>, R. González<sup>a</sup>, M.V. Catalina<sup>b</sup>, L.M. Molinero<sup>c</sup>, R. Bañares<sup>b</sup> y A. Albillos<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá. <sup>b</sup>Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario General Gregorio Marañón, Departamento de Medicina, Universidad Complutense, Madrid. <sup>c</sup>Alce Ingeniería, Madrid.

Los criterios actuales de reducción del GPVH para establecer la respuesta al tratamiento farmacológico de la hipertensión portal en la cirrosis, así como su utilidad clínica son objeto de controversia. Este meta-análisis evaluó la eficacia de los valores actuales de reducción del GPVH para predecir la hemorragia variceal en cirróticos en tratamiento farmacológico para la prevención primaria o secundaria de hemorragia variceal. Se buscaron publicaciones en bases de datos electrónicas, citas y resúmenes hasta Marzo de 2006. Se incluyeron cohortes de pacientes en tratamiento con beta-bloqueantes ± nitratos de estudios aleatorizados y no aleatorizados, que correlacionaban cambios del GPVH y hemorragia variceal. Las causas de heterogeneidad se examinaron mediante meta-regresión. El análisis de calidad se realizó por criterios para valorar las características de las cohortes y la adherencia de la medida del GPVH a las guías clínicas. Se identificaron 10 estudios, que incluían 595 pacientes con medida del GPVH basal y tras fármacos y 181 pacientes no evaluables (25% por hemorragia). El riesgo relativo (RR) de hemorragia fue menor en pacientes con respuesta global (GPVH  $\leq$  12 mmHg o descenso  $\geq$  20%) (0,27; IC95% 0,14-0,52), respuesta óptima (GPVH  $\leq$  12 mmHg) (0,48; IC 0,28-0,81) o respuesta suficiente (descenso del GPVH  $\geq$  20%) (0,41; IC 0,20-0,81), con heterogeneidad significativa. El análisis de meta-regresión identificó el intervalo entre las medidas del GPVH como la única variable asociada con hemorragia (coeficiente 0,34, DE 0,15,  $\tau^2$  0,33,  $p < 0,05$ ). A mayor intervalo, menor capacidad del GPVH para predecir el riesgo de hemorragia. La heterogeneidad perdió significación tras excluir un estudio atípico, con el mayor intervalo entre medidas y la menor calidad. Incluso considerando como respondedores a los pacientes no evaluables por hemorragia ("peor supuesto"), el RR de hemorragia era menor en respondedores globales (0,66; IC 0,51-0,86). El RR de muerte de causa hepática (0,58; IC 0,37-0,91) (NNT 6; IC 4-11) y de cualquier causa (0,71; IC 0,49-1,00) era menor en respondedores globales. La correlación del GPVH con el riesgo de resangrado se evaluó en 6 ensayos de profilaxis secundaria, que incluían 363 pacientes. El RR de resangrado fue inferior en pacientes con respuesta global (0,35; IC 0,16-0,80), óptima (0,56; IC 0,31-0,96) y suficiente (0,52; IC 0,22-1,22), con heterogeneidad. La heterogeneidad perdió significación tras excluir el estudio con mayor intervalo entre medidas del GPVH.

**Conclusión.** Este meta-análisis apoya el uso de los valores de reducción del GPVH para estimar la eficacia del tratamiento farmacológico de la hipertensión portal. Dicha monitorización también proporciona información pronóstica, pues la supervivencia es mayor en respondedores. Nuestros hallazgos señalan como causa de heterogeneidad al intervalo entre las dos determinaciones hemodinámicas, siendo menor la capacidad predictiva del GPVH cuanto mayor es el intervalo.

### LA INHIBICIÓN DE LA TRANSMISIÓN ADRENÉRGICA PUEDE CONTRIBUIR A LA VASODILATACIÓN ESPLÁCNICA DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL

M. Coll\*, J. Genescà\*, T. Otero\*, A. Rodríguez\*\*, J.C. García Pagán\*\*, M. Oria\*, J. Bosch\*\* y M. Martell\*

\*Hepatología Hospital Vall d'Hebron. \*\*Hemodinámica Hepática Hospital Clinic. Barcelona.

**Antecedentes.** La vasodilatación arterial, mediada en parte por óxido nítrico, es un componente fundamental en la alteración hemodinámica de la hipertensión portal. La tecnología de microarrays de ADN permite analizar de forma conjunta la más que probable complejidad del proceso que desencadena la vasodilatación arterial esplácnica.

**Objetivos.** Averiguar cuales son las alteraciones de expresión génica implicadas en el trastorno arterial esplácnico, desde las fases más precoces hasta la instauración de la hipertensión portal en un modelo experimental de ligadura parcial de la vena porta (PPVL) en rata.

**Métodos.** Se analizaron muestras secuenciales de arteria mesentérica obtenidas 1h, 6h, 24h, 3d, 5d y 14d post-ligadura comparadas con muestras de ratas sham con el mismo esquema, utilizando microarrays de expresión diferencial de 18.000 genes (Agilent). El análisis de los perfiles de expresión a lo largo del tiempo se realizó con el programa *maSigPro* y se aplicaron los algoritmos de agrupamiento PAMSAM para la clasificación en clusters de co-expresión potencial. La validación de los resultados se llevó a cabo por RT-PCR cuantitativa a tiempo real (Applied), tanto en las muestras de ratas PPVL y sham, como en muestras de arteria mesentérica (n = 6) y arteria hepática (n = 4) procedentes de ratas cirróticas por inducción con tetracloruro de carbono (8-15 semanas) y ratas control (n = 4 mesentéricas, n = 4 hepáticas).

**Resultados.** De los genes seleccionados en una primera aproximación por presentar perfiles de expresión que se ajustan a un modelo de regresión, 50 genes se agruparon en un cluster cuyo perfil de expresión se caracterizaba por una sobre-expresión a la primera hora post-ligadura, un descenso continuado de la expresión a lo largo del modelo y una represión génica muy acentuada a los 14 días (modelo en fase crónica). El análisis funcional de este cluster reveló que todas las expresiones se relacionaban con funciones del sistema nervioso, en particular con la vía de transmisión adrenérgica (en 50% de las expresiones). Entre las proteínas potenciales cuya síntesis estaba inhibida existían proteínas implicadas en la síntesis, transporte y liberación de catecolaminas (noradrenalina) en las terminales adrenérgicas. La cuantificación de 50 de estos mRNA por RT-PCR en las ratas con PPVL, confirmó los resultados de los microarrays en el total de los casos. Además, 42 genes de los 50 (84%) estaban inhibidos significativamente en la arteria mesentérica de rata cirrótica, con respecto a ratas control. En las muestras de arteria hepática, tanto de rata cirrótica como control, existía una muy baja o nula expresión de estos genes, lo que sugiere que la expresión observada es específica de arteria mesentérica.

**Conclusión.** Estos datos sugieren que en la circulación esplácnica de las ratas con hipertensión portal existe una marcada inhibición de la transmisión adrenérgica que puede tener un papel importante en la génesis de la vasodilatación esplácnica

**REGULACIÓN DEL POTENCIAL FIBROGÉNICO DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS POR LA ESFINGOMIELINASA ÁCIDA**

A. Moles, J.C. Fernández-Checa y M. Marí

*Unidad de Hepatología, Instituto Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial, y Departamento de regulación de proliferación y muerte celular, IDIBAPS, IIBB, CSIC, Barcelona.*

**Introducción.** Las células estrelladas hepáticas (CEH) son responsables de la sobreproducción y generación de proteínas de matriz extracelular en el hígado fibrótico. En el curso de las hepatopatías crónicas las CEH sufren una transformación fenotípica o activación celular que es clave en la patogenia de la fibrosis hepática. Los esfingolípidos en general, y la ceramida en particular, han surgido como segundos mensajeros lípidos en numerosas respuestas celulares. La activación de la esfingomielinasa ácida (ASMasa), enzima lisosomal/endosomal generadora de ceramida tras la hidrólisis de esfingomielina, se ha involucrado en la muerte celular por apoptosis bajo diversos estímulos.

**Objetivo.** Analizar si la modulación de la ASMasa en células estrelladas hepáticas (CEH) afecta su potencial fibrogénico.

**Métodos.** Se aislaron CEH procedentes de ratones (C57BL/6) salvajes y ASMasa<sup>-/-</sup> y se procedió a su cultivo en plástico. La activación de las CEH se determinó mediante PCR a tiempo real de los enzimas alfa-SMA, COL1A1, TGF-beta. La proliferación celular se determinó por MTT. La presencia de alfa-SMA y catepsina B se analizó por western blot.

**Resultados.** Las CEH procedentes de ratones ASMasa<sup>-/-</sup> muestran un aumento del mRNA de alfa-SMA (aprox. 7 veces), COL1A1 (2,5 veces) tras únicamente 2 días en cultivo respecto a su expresión en las CEH ASMasa<sup>+/+</sup>, la expresión de TGF-beta también se encuentra incrementada (aprox. 5 veces) en ASMasa<sup>-/-</sup> tras 6 días en cultivo.

Mientras que la expresión de alfa-SMA es detectable por western blot en CEH de ratones salvajes a los 8-10 días, este marcador de transformación fenotípica se observa en CEH de animales ASMasa<sup>-/-</sup> a los 3-4 días en cultivo. Así mismo, un marcado aumento en catepsina B, cistein-proteasa de localización lisosomal/endosomal implicada en apoptosis y crecimiento tumoral, se observó durante la activación de las CEH. De interés, las CEH deficientes en ASMasa mostraron una mayor expresión de catepsina B y un incremento en la proliferación. El uso de un inhibidor soluble específico de catepsina B (CA-074 Me, 10 uM) disminuyó la expresión del mRNA de alfa-SMA, COL1A1 y TGF-beta. Por otro lado, la inducción de la actividad ASMasa mediante la incubación con butirato sódico (5mM) frenó la proliferación de las CEH activadas, al tiempo que disminuyó la expresión de catepsina B.

**Conclusión.** La modulación de la actividad ASMasa es capaz de regular el potencial fibrogénico de las CEH y puede ser una nueva estrategia terapéutica para impedir el desarrollo de la fibrosis hepática.

**LAS PRÓTESIS CUBIERTAS MEJORAN LA EVOLUCIÓN CLÍNICA EN LA HEMORRAGIA REFRACTARIA POR VARICES TRATADA CON DPPI**M.V. Catalina<sup>1</sup>, J. Gómez<sup>1</sup>, M. Lozano<sup>1</sup>, I. Yepes<sup>1</sup>, O. Lo Iacono<sup>1</sup>, D. Rincón<sup>1</sup>, F. Camuñez<sup>2</sup>, A. Echenagusia<sup>2</sup>, M. Salcedo<sup>1</sup> y R. Bañares<sup>1</sup><sup>1</sup>Sección de Hepatología. Servicio de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Servicio de Radiología Vascular Intervencionista. HGU Gregorio Marañón. Madrid.

**Introducción.** La derivación portosistémica percutánea intrahepática (DPPI) es un procedimiento muy eficaz en el tratamiento de la hemorragia por varices. Las prótesis cubiertas parecen disminuir el número de recidivas hemorrágicas así como su tasa de disfunción pero su eficacia en el tratamiento de la hemorragia variceal refractaria al tratamiento convencional todavía no ha sido evaluada.

**Objetivo.** Comparar la evolución clínica de los pacientes con prótesis cubiertas (PC) frente a las no cubiertas (PNC) como tratamiento de rescate en la hemorragia variceal refractaria.

**Material y métodos.** Análisis retrospectivo de todas las DPPI urgentes realizadas en un centro de referencia desde Noviembre de 2001 hasta Abril de 2006. Se recogieron variables demográficas, clínicas y evolutivas.

**Resultados.** Analizamos 159 DPPI urgentes (101 PNC, 58 PC) en 126 varones y 33 mujeres (edad media 54,2 (12), rango 20-77 años). La función hepática se evaluó por la clasificación de Child-Pugh (A: 15,3%, B: 48,2%, C: 36,5%) y el índice MELD (media 15 (8), rango 6-55 puntos). El 60,4% tenía varices esofágicas y el resto gástricas (39,6%). El gradiente portocava (GPC), antes y después de la DPPI fue 20,6 (5) y 7,5 (2,9) mmHg. Las características clínicas basales (edad, sexo, causa de la cirrosis, tipo de varices, Child, MELD, presencia de infección bacteriana) y hemodinámicas (GPC antes y después de la DPPI) fueron similares en el grupo de PC y PNC. El control del sangrado fue más frecuente en el grupo de PC (98,2% vs 89,7%, p = 0,05). La mortalidad global del episodio agudo (mortalidad a los 42 días) fue del 13,2%: 17/101 pacientes (17,2%) en las PNC y 4/58 (7,3%) en las PC. La infección bacteriana, el grado de la clasificación de Child-Pugh, el MELD y el tipo de prótesis se asociaron con la mortalidad a los 42 días en el análisis univariado. Únicamente un MELD mayor de 14 (OR: 6,5 CI 95 % 1,3-31,2; p = 0,007) y el tipo de prótesis (OR 3,5 CI 95 % 0,9-14,0; p = 0,059) fueron variables predictoras independientes en el análisis de regresión logística. La presencia de encefalopatía hepática en los 6 primeros meses de seguimiento fue significativamente superior en el grupo de PC (37,5% vs 17,6%, p = 0,007). La disfunción precoz de las DPPI (6 primeros meses) que requirió tratamiento vascular fue mayor en las PNC (41,1% vs 10,9%, p = 0,000).

**Conclusiones.** La utilización de prótesis cubiertas en la hemorragia aguda refractaria de origen variceal se asocia con un control del sangrado más eficaz y a una menor mortalidad a los 42 días.

**LOS HAPLOTIPOS TACG Y CACG DEL GEN DE LA GLUTAMINASA PROTEGEN FRENTE A LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA**M. Jover, J.J. Galán, I. Camacho, L. Grande, J.D. Bautista, E. Hoyas, C. Trabada, A. Ruiz y M. Romero-Gómez  
*UGC Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. Departamento de Genómica estructural. Neocodex. Sevilla. Depto de Bioquímica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla.*

**Introducción.** La glutaminasa activada por fosfato (PAG) esta aumentada en cirróticos y se ha relacionado con la encefalopatía hepática mínima. El gen de la PAG humana (OMIM: 138280) esta localizado en el cromosoma 2 (2q32-q34) con 84675 pares de bases (pb).

**Objetivo.** Investigar el papel de los polimorfismos del gen de la PAG en la valoración del riesgo de desarrollar encefalopatía hepática (EH).

**Métodos.** Analizamos cuatro polimorfismos intragénicos en el gen PAG (rs3771310, rs6743496, rs2883713, rs3088307) de 103 cirróticos y 81 controles sanos. Pacientes y controles se subclasificaron por genotipos y haplotipos. Se realizó un estudio de casos controles así como diferentes análisis de endocohortes. Se diagnosticó mediante PHES la presencia de encefalopatía hepática mínima (EHM). La producción intestinal de amonio se estudió mediante la prueba de la sobrecarga oral de glutamina (SOG) midiendo la concentración de amonio antes y una hora después de la administración de 10 gramos de L-glutamina. Se calculó mediante el índice MELD y el Child-Pugh la función hepática. Calculamos el riesgo de encefalopatía hepática considerando el PHES junto con la prueba de SOG. Método estadístico: Llevamos cabo un análisis de marcadores simples utilizando test adaptados de Sasieni, con correcciones múltiples y utilizando el software Thesias se analizaron desequilibrios de ligamiento y análisis de haplotipos. La asociación con variables cualitativas se expresa en odds ratio y las variables cuantitativas como la diferencia frente al haplotipo de referencia.

**Resultados.** El genotipo CC del polimorfismo rs2883713 localizado en el intron 9 estaba sobre-representado en cirróticos frente a controles (26,2% vs 13,6%; p = 0,036). Los haplotipos TAGG y CACG se asociaron con una menor producción intestinal de amonio, mejor función hepática y mayor riesgo de desarrollar encefalopatía hepática.

**Conclusiones.** Estos resultados apoyan el papel patogénico de la PAG en la encefalopatía hepática. Los haplotipos TACG y CACG

HAPLOTIPO	Variabile	Odds ratio / Diferencia frente haplotipo de referencia	P
TACG	MELD	-2,29 (-4,3 a - 1,49)	0,00006
	SOG	O.R: 0,24 (0,09 - 0,63)	0,003
	PHES	O.R: 0,44 (0,09 - 1,69)	NS
	RIESGO EH	O.R: 0,24 (0,1 - 0,58)	0,0013
CACG	MELD	-2,59 (-4,05 a - 1,13)	0,0005
	SOG	O.R: 0,34 (0,14-0,82)	0,01
	PHES	O.R: 0,76 (0,03 - 1,78)	NS
	RIESGO EH	O.R: 0,32 (0,14 - 0,73)	0,006

se asocia a una menor producción intestinal de amonio, bajo riesgo de encefalopatía hepática y se asocia con una mejor función hepática. El genotipo salvaje CC del polimorfismo rs2883713 en el intrón 9 confiere susceptibilidad para el desarrollo de cirrosis hepática. *Agradecimientos: FIS P1040384 del ISCIII.*

**LA TRASLOCACIÓN BACTERIANA INDUCE UNA RESPUESTA INFLAMATORIA LOCAL Y SISTÉMICA SIMILAR A LA OBSERVADA EN PACIENTES CON PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA**

R. Francés, J.M. González-Navajas, P. Zapater, C. Muñoz, R. Caño, S. Pascual, M. Pérez-Mateo y J. Such  
*Unidad Hepática, Hospital General Universitario Alicante, España.*

La traslocación de bacterias intestinales y su llegada al líquido ascítico (LA) es probablemente el primer paso en el desarrollo de peritonitis bacteriana espontánea (PBE) en los pacientes con cirrosis. Las síntesis de citocinas, a través de las vías de polarización de la respuesta inmune (T1 y T2) como mediadores solubles implicados en la respuesta inmune innata del huésped frente a infecciones bacterianas regula el proceso inflamatorio.

**Objetivo.** Comparar la modulación de citocinas T1 y T2 en respuesta a la presencia de ADN bacteriano (ADNbact) en suero y LA con la situación observada en pacientes con PBE.

**Pacientes y métodos.** Los grupos I y II estuvieron formados por pacientes con ascitis no infectada sin/con ADNbact, identificado por mediante broad-range PCR del gen 16SrRNA de procariotas y análisis por secuenciación. El grupo III incluyó pacientes con PBE con cultivo positivo y el grupo IV pacientes en tratamiento continuo con norfloxacina como descontaminación intestinal selectiva (DIS). La cuantificación de los mediadores en suero y LA se realizó mediante ELISA.

**Resultados.** La tablas 1 y 2 resumen los valores de los mediadores de la respuesta T1 y T2 estudiados en suero y LA de pacientes distribuidos en los grupos de estudio. Las citocinas de tipo I se encontraron activadas en pacientes de los grupos II y III, comparado con pacientes sin ADNbact y en DIS (grupos I y IV). Estas diferencias entre grupos no se encontraron para las citocinas de la respuesta tipo II. Un análisis multivariado de todas las variables clínicas, analíticas y experimentales de los pacientes identificó al ADNbact como único factor estadísticamente significativo.

**Conclusiones.** El ADNbact induce una respuesta proinflamatoria tipo I en pacientes con cirrosis y ascitis con cultivo negativo, mien-

tras que la respuesta de tipo II no muestra variaciones. La presencia de este antígeno bacteriano en un subgrupo de estos pacientes causa un escenario citocínico en suero y LA similar al observado en pacientes con PBE. Este hecho debe tener repercusiones pronósticas similares a las observadas en pacientes con PBE tras finalizar un tratamiento antibiótico. La administración de norfloxacina a largo plazo consigue normalizar la respuesta inflamatoria.

**PREVALENCIA Y SIGNIFICADO DE LA PRESENCIA DE REPLICACIÓN VIRAL DETERMINADA POR PCR A TIEMPO REAL EN PORTADORES INACTIVOS DEL VHB**

L. García-Isidro<sup>1</sup>, L.G Diéguez<sup>1</sup>, A. Morilla<sup>2</sup>, A. Huergo<sup>1</sup>, M. Rodríguez<sup>2</sup>, M. Oña<sup>2</sup>, L. Rodrigo<sup>1</sup> y M. Rodríguez<sup>1</sup>  
*S. Digestivo<sup>1</sup> y Microbiología<sup>2</sup>. Hospital Universitario Central de Asturias.*

**Introducción.** El desarrollo de técnicas altamente sensibles para la detección del DNA-VHB hace que con relativa frecuencia se demuestre la presencia de replicación viral en portadores considerados "sanos" o inactivos, cuyo significado no es bien conocido.

**Objetivos.** Conocer la prevalencia y el significado de la presencia de replicación viral, determinada por PCR a tiempo real (PCR-TR) en portadores inactivos del VHB.

**Material y métodos.** Se estudiaron 108 portadores inactivos del VHB atendidos de forma consecutiva. El diagnóstico de portador inactivo se basó en: ausencia de HBeAg, normalidad de las cifras de AST/ALT y DNA-VHB sérico <10<sup>3</sup> cop/ml, confirmados en varios controles y en ausencia de tratamiento antiviral. En todos ellos se descartó coinfección por VHC, VHD y VIH y se realizó al menos una determinación de DNA-VHB por PCR-TR (Cobas TaqMan VHB). Se compararon las características de los pacientes con PCR-TR positiva y negativa. Además, 45 pacientes fueron seguidos durante una mediana de 12,3 meses tras la determinación del DNA-VHB. Las curvas de probabilidad se obtuvieron mediante Kaplan-Meier y se compararon con la prueba de log-rank.

**Resultados.** En 79 de los 108 (73%) la PCR-TR fue positiva, con un valor medio de 8509 ± 15008 cop/ml (<10<sup>3</sup>: 31%; 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup>: 47%; 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup>: 22%). Con respecto a los negativos, los positivos eran más jóvenes (43 ± 12 vs 50 ± 14 años; p = 0,02) y presentaban títulos más elevados de HBsAg (339 ± 109 vs 191 ± 109 U; p < 0,001) y de antiHBcIgM (0,23 ± 0,22 vs 0,12 ± 0,09; p = 0,02). No se encontraron diferencias significativas con respecto al sexo, tiempo desde el diagnóstico de portador inactivo, valores de ALT, vía de adquisición o antecedentes de haber sido HBeAg positivo o haber recibido tratamiento antiviral. Durante el seguimiento, 5/45 (11%) negativizaron el HBsAg, con una probabilidad acumulativa al año y a los dos años del 20% y 60% para los PCR-TR negativo y del 0% para los PCR-TR positivo (p < 0,0001). Por otra parte, 5/33 (15%) PCR-TR positivo, la negativizaron durante el seguimiento.

**Conclusiones.** La presencia de replicación viral, determinada por PCR a tiempo real, es frecuente en portadores inactivos del VHB. Su determinación permite establecer dos estadios dentro de la fase de portador inactivo, uno inicial caracterizado por la presencia de la misma y otro posterior en el que ésta está ausente y que precede a la curación de la infección.

Tabla 1

	Grupo I (n = 21)		Grupo II (n = 21)		Grupo III (n = 9)		Grupo IV (n = 9)	
	Suero	LA	Suero	LA	Suero	LA	Suero	LA
TNF-α(pg/mL)	14,10 ± 4,19	16,09 ± 3,83	34,25 ± 10,73*	43,02 ± 14,49*	32,40 ± 15,62*	53,48 ± 17,04*	14,37 ± 3,65	20,63 ± 10,31
IFN-γ (pg/mL)	19,10 ± 4,92	24,05 ± 6,53	32,25 ± 7,86*	37,03 ± 8,22*	35,88 ± 8,93*	40,66 ± 9,72*	21,00 ± 4,76	25,55 ± 7,53
IL-12 (pg/mL)	38,07 ± 8,92	42,94 ± 11,25	61,42 ± 19,78*	79,44 ± 22,53*	48,70 ± 16,61*	85,16 ± 12,09*	33,12 ± 9,23	35,80 ± 12,51
IL-2 (pg/mL)	41,49 ± 20,64	37,68 ± 22,17	50,72 ± 23,43*	65,48 ± 20,08*	71,46 ± 16,45*	72,96 ± 21,92*	37,66 ± 11,36	49,66 ± 20,02

Valores expresados como media ± desviación estándar; \*p < 0,05 comparado con el grupo I

Tabla 2

	Grupo I (n = 19)		Grupo II (n = 16)		Grupo III (n = 9)		Grupo IV (n = 9)	
	Suero	LA	Suero	LA	Suero	LA	Suero	LA
IL-4 (pg/mL)	34,62 ± 20,69	42,22 ± 22,58	100,40 ± 52,68*	64,87 ± 27,94*	82,64 ± 18,27*	81,37 ± 22,54*	42,52 ± 20,20	49,00 ± 22,20
IL-5 (pg/mL)	87,21 ± 78,55	108,93 ± 78,52	109,61 ± 57,96	123,76 ± 65,33	98,25 ± 15,55	119,59 ± 31,31	92,12 ± 14,10	103,20 ± 12,65
IL-10 (pg/mL)	54,42 ± 39,91	93,67 ± 72,63	59,07 ± 25,78	84,70 ± 35,39	57,10 ± 24,31	94,50 ± 25,01	45,46 ± 16,52	96,23 ± 18,16
IL-13 (pg/mL)	43,08 ± 19,36	112,84 ± 41,54	37,77 ± 17,07	87,29 ± 19,86	49,81 ± 15,62	92,51 ± 18,80	42,95 ± 20,04	91,02 ± 30,86

Valores expresados como media ± desviación estándar; \*p < 0,05 comparado con el grupo I

## Sesión general 3

Moderadores: José M<sup>a</sup> Navarro (Barcelona). José M<sup>a</sup> Llovet (Barcelona).

### EL INTERFERÓN ALFA2B RECOMBINANTE ES EFICAZ Y SEGURO COMO ADYUVANTE DE LA VACUNA CONTRA LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON BAJA RESPUESTA

M.E. Miquilena Colina<sup>1</sup>, T. Lozano Rodríguez<sup>1</sup>, L. García Pozo<sup>1</sup>, M. Rapicetta<sup>2</sup>, P. Chionne<sup>2</sup>, P. Rizza<sup>2</sup>, F. Belardelli<sup>2</sup>, O. Lo Iacono<sup>3</sup> y C. García Monzón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Investigación (Laboratorio de Hepatología Experimental).

<sup>2</sup>Hospital Universitario Santa Cristina, Madrid; Departamento de Virología. <sup>3</sup>Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia; y Fundación de Investigación Biomédica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

**Introducción.** La vacuna recombinante contra el virus de la hepatitis B (VHB) produce una elevada tasa (>90%) de seroprotección (anti-HBs $\geq$ 10 mUI/ml) cuando se administra a personas sanas. Existen, no obstante, poblaciones con un alto riesgo de infección por el VHB, como los pacientes en hemodiálisis, que presentan una baja respuesta a la vacunación. Los interferones (IFN) de tipo I, alfa y beta, son citoquinas capaces de estimular la respuesta inmune humoral y celular, lo que sugiere que podrían ser útiles como adyuvantes de la vacuna anti-VHB en pacientes con baja respuesta.

**Objetivo.** Determinar la tasa de seroprotección de la vacuna anti-VHB (ENGERIX-B, GlaxoSmithKline), administrada con o sin IFN- $\alpha$ 2b recombinante (INTRONA, Schering-Plough), en pacientes en hemodiálisis no vacunados previamente.

**Pacientes y métodos.** En un ensayo clínico abierto de fase III (n<sup>o</sup> EudraCT: 2004-002528-16) se han incluido 65 pacientes (edad: 58 $\pm$ 12 años; sexo: 52 hombres, 13 mujeres), de los cuales 49 han completado la pauta de vacunación. Todos ellos tenían serología negativa para el VHB, VHC y VIH, siendo asignados aleatoriamente a 2 grupos de vacunación. *Grupo A* (n = 34): Cuatro dosis de 40 mcg de ENGERIX-B administradas por vía intramuscular en el deltoides en los meses 0, 1, 2 y 6. *Grupo B* (n = 31): La misma pauta de vacunación más INTRONA a una dosis de 3 MUI administrado simultáneamente con cada dosis de ENGERIX-B en el mismo músculo deltoides. Como variable de eficacia, se analizó la concentración sérica de anti-HBs, medida por un ELISA cuantitativo (AXSYM AU-SAB, Abbott Lab), 1 mes después de la 3<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> dosis en ambos grupos de pacientes. Como variables de seguridad, se recogió la aparición de acontecimientos adversos (AA), tanto clínicos como analíticos, 1 mes después de cada dosis en ambos grupos de pacientes. Se realizó un análisis estadístico comparativo de todas las variables en estudio.

**Resultados.** La tasa de seroprotección 1 mes después de la 3<sup>a</sup> dosis fue del 38,2% (13 de 34) en el grupo A y del 74,2% (23 de 31, p = 0,007) en el grupo B, siendo la tasa de seroprotección 1 mes después de la 4<sup>a</sup> dosis del 61,5% (16 de 26) en el grupo A y del 82,6% (19 de 23, p = 0,189) en el grupo B. Ninguno de los pacientes del grupo A presentó algún AA relacionado con la vacuna, mientras que el 80,6% (25 de 31, p < 0,001) de los pacientes del grupo B presentó algún AA, siendo el más frecuente la fiebre de intensidad leve o moderada en las siguientes 24 horas de la vacunación. Ninguno de los 65 pacientes presentó algún AA grave ni AA hematológico (leucotrombopenia) relacionado con los fármacos en estudio.

**Conclusión.** El IFN $\alpha$ 2b recombinante es eficaz como adyuvante de la vacuna recombinante anti-hepatitis B en pacientes con baja

respuesta a la vacunación convencional, aumentando significativamente la tasa de seroprotección con sólo 3 dosis de vacuna.

### DESARROLLO DE UNA VACUNA FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) MEDIANTE EL USO DE UNA PROTEÍNA RECOMBINANTE DE FUSIÓN ENTRE EN EL DOMINIO EXTRA A DE LA FIBRONECTINA Y LA PROTEÍNA NS3 DEL VHC

C. Mansilla<sup>1</sup>, N. Casares<sup>1</sup>, M. Gorraiz<sup>1</sup>, S. Hervás-Stubbs<sup>2</sup>, L. Arribillaga<sup>1</sup>, M.C. Durántez<sup>1</sup>, D. Llopiz<sup>1</sup>, P. Sarobe<sup>1</sup>, F. Borrás-Cuesta<sup>1</sup>, J. Prieto<sup>1</sup>, C. Leclerc<sup>2</sup> y J.J. Lasarte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada CIMA, Pamplona. <sup>2</sup>Institut Pasteur, Unité de Régulation Immunitaire et Vaccinologie, Paris. France.

El desarrollo de una vacuna frente al virus de la hepatitis C es necesaria para el control de esta infección. En este trabajo se plantea el uso de una proteína recombinante que contiene el dominio extra A de la fibronectina (EDA), un ligando natural de toll like receptor 4 (TLR4) unido a la proteína NS3 del virus de la hepatitis C (VHC) para inducir una respuesta inmune potente frente al virus de la hepatitis C. La utilización de la proteína EDA podría por un lado, favorecer el "targeting" del antígeno NS3 a las células dendríticas (CD) que expresan TLR4, y por otro lado favorecer la maduración de las CD para inducir una respuesta inmune celular eficaz frente a la proteína NS3 del VHC. En este trabajo demostramos que la proteína EDA se une a la molécula TLR4 activando su señalización, estimulando a las CD en su producción de citoquinas proinflamatorias como IL-12 o TNF- $\alpha$ , e induciendo su maduración *in vitro* e *in vivo*. La unión de EDA a un epítipo citotóxico de la ovalbúmina permite la presentación eficaz de este epítipo a linfocitos T específicos e induce *in vivo* la activación de una potente respuesta citotóxica específica que protege frente a la inyección de células tumorales que expresan ovalbúmina. La inmunización de ratones transgénicos HHD, que expresan la molécula HLA-A2, con una proteína de fusión que contiene EDA y la proteína NS3 del virus de la hepatitis C induce una potente respuesta CD4 y CD8 frente a la proteína NS3. Estos resultados sugieren que la proteína recombinante de fusión entre el dominio extra A de la fibronectina y la proteína NS3 del VHC podría utilizarse en el desarrollo de una vacuna profiláctica o terapéutica frente a la infección por el virus de la hepatitis C.

### LA PROTEÍNA X (HBX) DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) PROMUEVE LA ACTIVACIÓN Y PROLIFERACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS (CEHS) VÍA TGF-BETA

S. Martín-Vílchez<sup>1</sup>, Y. Rodríguez-Muñoz<sup>1</sup>, P. Sanz-Cameno<sup>1</sup>, M. López-Cabrera<sup>2</sup>, R. Moreno-Otero<sup>1</sup> y E. Lara-Pezzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología. <sup>2</sup>Unidad de Biología Molecular, Hospital Universitario La Princesa. Madrid.

La infección por VHB está asociada al desarrollo de cirrosis y hepatocarcinoma. La proteína X del VHB es un transactivador viral capaz de modificar numerosas rutas de señalización interfiriendo así en diversas funciones celulares. La activación CEHS es crucial en el

inicio de la fibrosis y se caracteriza por un incremento en la expresión de moléculas y factores de crecimiento fibrogénicos como el COL-I y CTGF, así como por un importante aumento en su proliferación.

**Objetivo.** Determinar si HBx puede modular la activación y proliferación de las CEHs y las posibles vías de señalización.

**Métodos.** CEHs primarias obtenidas de Sciencell (San Diego, CA) son incubadas con medios condicionados (0%) FBS de diferentes líneas hepatocitarias: CMX línea celular generada por transfección de la línea Chang-Liver (CHL) con HBx, que se expresa de manera inducible por dexametasona (CMXdx); 2.2.15 generada por la transfección de la línea HepG2 con un replicón del VHB. Las líneas parentales CHL y HepG2 se emplearon como controles. Tras incubar las CEHs durante 24h con los medios condicionados se analizó la expresión de las moléculas COL-I y CTGF mediante Western Blot; la proliferación de las CEHs se analizó mediante exclusión de trypan Blue y conteo con microscopio de contraste de fase. Se realizaron ensayos de neutralización con anticuerpos frente a citoquinas involucradas en la fibrosis hepática PDGF, TNF-alfa, VEGF, TGF-beta.

**Resultados.** Los niveles de CTGF y COL-I están aumentados en las CEHs sometidas a medios que contienen la proteína viral X, respecto a las CEHs incubadas con los medios procedentes de las líneas parentales. Existe una mayor tasa de proliferación en las CEHs expuestas a medios de CMX, CMXdx y 2215, mientras que las CEHs expuestas a los medios control apenas proliferan. Los ensayos de neutralización con anticuerpos se observó una disminución tanto en la expresión de marcadores de fibrosis como en la proliferación cuando se neutralizó con anti-TGF-b, pero no se observaron cambios al emplear otro tipo de anticuerpo neutralizante frente al resto de citocinas.

**Conclusiones.** Nuestro trabajo revela que las CEHs humanas son activadas por la proteína X del VHB, como pone de manifiesto el aumento de síntesis de COL-I y CTGF y el aumento de la proliferación. Los experimentos de neutralización indican que la modulación de la activación y proliferación de las CEHs por HBx está mediada, principalmente, por TGF-beta.

#### LA ANFIREGULINA PARTICIPA EN LA INDUCCIÓN DE FORMAS ONCOGÉNICAS DE P73 EN EL HCC MEDIANTE UN MECANISMO DE SPLICING ALTERNATIVO

J. Castillo<sup>1</sup>, A. Calvo<sup>1</sup>, E. Petri<sup>1</sup>, M.J. Perugorria<sup>1</sup>, M.U. Latasa<sup>1</sup>, P. Bioulac-Sage<sup>2,3</sup>, C. Balabaud<sup>2,4</sup>, M.A. Ávila<sup>1</sup>, J. Prieto<sup>1</sup> y C. Berasain<sup>1</sup>

<sup>1</sup>División de Hepatología y Terapia Génica. CIMA. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Irunlarrea 1. Pamplona. <sup>2</sup>Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Pellegrin, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France. <sup>3</sup>Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint-André CHU Bordeaux, Bordeaux, France. <sup>4</sup>Département d'Hépatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France.

Nuestro grupo ha demostrado que la anfiregulina (AR), un factor de crecimiento de la familia del EGF, juega un papel fundamental en la regeneración hepática y en la protección frente al daño hepático agudo (Berasain et al, Gastroenterology 2005; Berasain et al, JBC 2005). Además hemos demostrado que la expresión de la AR, no detectable en el hígado sano se induce en muestras de cirrosis y HCC humanas y contribuye al fenotipo transformado de las células de HCC (Castillo et al, Cancer Res. 2006). El gen p73 pertenece a la familia del gen supresor de tumores p53, pero a diferencia de éste, codifica para diferentes isoformas, algunas de ellas con actividad oncogénica. Estas isoformas son defectivas en la región transactivadora de la proteína y se pueden producir mediante dos mecanismos diferentes: (1) la utilización de un promotor interno alternativo o (2) el "splicing" alternativo. En el presente trabajo hemos detectado mediante RT-PCR a tiempo real la expresión de la isoforma oncogénica p73-Deltaexon2 generada por exclusión del exón 2 mediante splicing alternativo, en el 11% de los hígados sa-

nos (n = 18) y en un porcentaje significativamente (P < 0,01) superior de hígados sanos que albergan un HCC (84%, n = 12), de hígados cirróticos (74%, n = 50) y de HCC (89%, n = 36). Trabajos recientes implican a factores de crecimiento y a las rutas de kinasas controladas por éstos, tales como JNK, ERK y Akt en el splicing alternativo de diferentes genes. En el presente proyecto analizamos el posible papel de la AR en el control del splicing alternativo de p73 en el HCC. Nuestros resultados muestran cómo el tratamiento con AR de las células de HCC humano SK-Hep1 que no expresan AR, favorece la exclusión del exón 2 de p73. De igual modo, el silenciamiento específico de la expresión de la AR mediante siRNAs en la línea de HCC humana PLC/PRF/5, resultó en una disminución de la isoforma oncogénica p73-Deltaexon2. En estos efectos parecen estar implicadas las kinasas JNK, ERK y Akt. Nuestros resultados sugieren que el papel oncogénico de la AR puede estar mediado en parte por la modulación del splicing alternativo de p73

#### LA ESFINGOMIELINASA ÁCIDA ES NECESARIA PARA LA PERMEABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL Y MUERTE HEPATOCELULAR MEDIADA POR TNF A TRAVÉS DE LA PEROXIDACIÓN DE LA CARDIOLIPINA (CL)

M. Marí, A. Colell, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial, y Departamento de regulación de proliferación y muerte celular, IDIBAPS, IIBB, CSIC, Barcelona.

La señalización apoptótica por TNF es un proceso complejo mediado por interacciones proteicas y la participación de numerosos intermediarios intracelulares. La generación de esfingolípidos a través de la activación de las esfingomielinasas se ha implicado en las rutas apoptóticas mediadas por ligandos de la muerte. En estudios anteriores hemos observado por un lado que la resistencia intrínseca de los hepatocitos al TNF se puede vencer mediante la disminución selectiva del glutatión mitocondrial (mGSH) induciendo la muerte apoptótica/necrótica de los hepatocitos, y por otro que la esfingomielinasa ácida (ASMasa) es necesaria para la muerte hepatocelular mediada por TNF (J. Clin. Invest. 111: 197, 2003; 113: 895, 2004). Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es analizar la señalización responsable de la diferente susceptibilidad observada tras el tratamiento por TNF en hepatocitos con mGSH disminuido, en hepatocitos salvajes y deficientes en ASMasa.

**Métodos.** Hepatocitos de ratones salvajes y ASMasa KO de 8-10 semanas (C57BL/6) se aislaron mediante colagenasa. El mGSH se disminuyó con (R. S)-3-hidroxi-4-pentenoato (HP, 0,5mM). La viabilidad y la morfología de la cromatina se determinaron mediante GST y Hoescht/PI. La translocación a la mitocondria de Bax, tBid y pBim, fosforilación de JNK y activación de caspasa-3 se determinaron por western blot. La permeabilización de la membrana mitocondrial (MMP) se determinó mediante tinción con TMRM/Calceína. Los niveles de CL se analizaron por HPLC. La generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) se determinó por fluorimetría.

**Resultados.** La traslocación de Bax a la mitocondria, proteólisis de Bid, activación de NF-κB y fosforilación transitoria de JNK se observó tanto en hepáticos ASMasa<sup>+/+</sup> como en ASMasa<sup>-/-</sup> independientemente de la disminución del mGSH. Sin embargo, únicamente los hepatocitos ASMasa<sup>+/+</sup> con mGSH disminuido mostraron MMP con un menor nivel de CL intacta (40-50%) debido a un aumento del contenido en hidroperóxido de CL, liberación de citocromo c al citosol y activación de caspasa-3 que culminó en muerte celular. Ninguno de estos procesos se observó en hepatocitos ASMasa<sup>-/-</sup> a pesar de la disminución del mGSH. Por otra parte, una generación temprana de ROS (15-30 min tras adición de TNF) se observó exclusivamente en hepatocitos ASMasa<sup>+/+</sup> con mGSH disminuido y tratados con TNF, pero no en hepatocitos tratados únicamente con TNF ni en los deficientes en ASMasa con TNF a pesar de tener disminuido el mGSH. Además, en estudios previos hemos analizado la distribución celular del gangliósido GD3 en respuesta al TNF observando su localización mitocondrial (30 min tras la adición de TNF) en hepatocitos salvajes pero no en los deficientes



en ASMas sugiriendo que esta enzima es necesaria para este proceso.

**Conclusión.** El mGSH modula la susceptibilidad hepatocelular frente al TNF al controlar el estado redox de la CL tras la generación de ROS inducida por la ASMas.

#### ANÁLISIS PROTEÓMICO PARA LA IDENTIFICACIÓN EN PLASMA DE BIOMARCADORES DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR

L.M. López-Sánchez, I. Ranchal, M. Pleguezuelo, P. Barrera, J. Muntané, A. Rodríguez-Ariza y M. de la Mata

*Sección de Hepatología, Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.*

**Antecedentes.** El carcinoma hepatocelular (CHC) reúne los requisitos para una vigilancia efectiva: es una enfermedad frecuente con una relevante morbilidad y mortalidad y con una población de alto riesgo (el 90% de los casos asientan en cirrosis hepática de etiología vírica o alcohólica) bien definida. La única estrategia para disminuir la mortalidad asociada al CHC es una detección temprana que permita una terapia eficaz. El objetivo del presente estudio es la identificación de potenciales nuevos marcadores moleculares que mejoren la detección y la predicción de la progresión de la enfermedad. Para ello se ha llevado a cabo un análisis proteómico de expresión diferencial en plasma de pacientes con y sin CHC.

**Métodos.** Se obtuvieron muestras de plasma de 44 pacientes con CHC de diferente etiología (18 de alcohol, 10 de VHB, y 16 de VHC), con y sin CHC, y potencialmente susceptibles de evolucionar a ser candidatos para resección o trasplante en el Hospital Universitario Reina Sofía. En todas las muestras obtenidas de plasma se eliminaron las proteínas más abundantes mediante inmunodepleción. Las restantes se separaron mediante electroforesis 2D, y los geles fueron digitalizados para el análisis de imagen. Las proteínas de interés fueron identificadas mediante MALDI-TOF y huella peptídica. Se analizaron comparativamente las muestras procedentes de pacientes sin CHC y pacientes con CHC con la misma etiología de la enfermedad hepática subyacente.

**Resultados.** El análisis comparativo permitió identificar varios patrones de expresión proteica diferencial en el plasma de pacientes con CHC. Entre ellos se identificaron la apolipoproteína E (apoE, 18 de 22 pacientes) y la apolipoproteína A1 (apo A1, 14 de 22 pacientes), como proteínas con un mayor nivel de expresión en el plasma de pacientes con CHC, comparado con sus respectivos controles de igual etiología.

**Conclusiones.** Los resultados sugieren que los niveles plasmáticos de apoA1 y apoE pueden constituir potenciales biomarcadores de CHC en pacientes con cirrosis hepática de diversa etiología. El estudio pone de manifiesto que el análisis proteómico constituye una eficaz herramienta para la búsqueda de nuevos marcadores moleculares del CHC.

#### DIFERENCIACIÓN IN VITRO DE CÉLULAS CD133+ DE MÉDULA ÓSEA HACIA HEPATOCITOS

C. Herencia<sup>1</sup>, A. Rodríguez-Ariza<sup>1</sup>, L.M. López-Sánchez<sup>1</sup>, C. Herrera<sup>2</sup>, I. Espejo<sup>3</sup>, E. Fraga<sup>1</sup>, M. de la Mata<sup>1</sup>, J. Muntané<sup>1</sup> y J.R. Muñoz-Castañeda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Clínica de Aparato Digestivo, <sup>2</sup>Departamento de Hematología y Trasplante de Médula Ósea y <sup>3</sup>Servicio de Análisis Clínico del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

**Introducción.** Distintos tipos de células madre de médula ósea, como las células madre mesenquimales o las hematopoyéticas, tienen la capacidad de diferenciarse tanto in vivo como in vitro hacia hepatocitos. Esta diferenciación celular transcurre con el concurso de diferentes citoquinas, hormonas y factores de crecimiento.

**Objetivos.** Diferenciar células madre de médula ósea CD133+ a hepatocitos funcionales, así como evaluar la combinación de citoquinas que se aproxima más al estado de hepatocito.

**Métodos.** En este estudio se seleccionaron células madre de médula ósea CD133+ mediante separación inmunomagnética, obteniendo una pureza superior al 95%. Para estimular la expansión inicial de las células CD133+ aisladas se administraron las siguientes citoquinas: stem cells factor (100 ng/ml, SCF), trombopoyetina (20 ng/ml, TPO) y Flt3-ligando (100 ng/ml) durante 9 días. Para la diferenciación se emplearon distintas combinaciones de citoquinas: placa 1, HGF, FGF-b, FGF-a, placa 2, HGF y EGF, y placa 3 control sin citoquinas. Las células se cultivaron en medio IMDM suplementado con 10% de FBS, 2mM de L-glutamina, 1% antibióticos durante 28 días. Durante el cultivo se evaluaron los cambios morfológicos. Tras 28 días de cultivo, se analizó el contenido de proteínas hepatoespecíficas secretadas al medio de cultivo. Al mismo tiempo se lisaron las células y se realizó una electroforesis bidimensional en gel de poliacrilamida.

**Resultados.** El estudio del inmunofenotipo reveló la coexpresión del marcador stem cell CD133+ con el CD34+. La administración de SCF, TPO y Flt3-ligando incrementó la población celular en 2,6 veces. Tras 28 días de cultivo con citoquinas de diferenciación, la evolución morfológica de las células CD133+ varió de pequeñas y esféricas al inicio del mismo a grandes y poligonales. El análisis del sobrenadante del cultivo mostró la presencia de proteínas hepatoespecíficas como pre-albúmina, ceruloplasmina o alfa-1-antitripsina. El análisis proteómico 2D mostró diferencias en el perfil de expresión proteica entre las células control y las sometidas a diferenciación, observándose proteínas hepatoespecíficas así como otras coexpresadas en hígado y otros tejidos.

**Conclusión.** La administración de citoquinas ha inducido la diferenciación de las células CD133+. La combinación HGF y EGF proporciona un estado más próximo al hepatocito.

## Sesión general 4

Moderadores: Jordi Muntane. (Córdoba). Alberto Monescillo (Cáceres).

### TIPS EN EL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE BUDD-CHIARI. RESULTADOS A LARGO PLAZO EN 124 PACIENTES Y FACTORES PRONÓSTICOS

S. Raffa<sup>1</sup>, M. Heydtmann<sup>2</sup>, A. Plessier<sup>3</sup>, S.D. Murad<sup>4</sup>, F. Fabris<sup>5</sup>, G. Vizzini<sup>6</sup>, J.G. Abraldes<sup>1</sup>, P. Bellot<sup>1</sup>, A. Luca<sup>6</sup>, M. Primignani<sup>5</sup>, H. Jansenn<sup>4</sup>, D. Valla<sup>3</sup>, E. Elyas<sup>2</sup>, J. Bosch<sup>1</sup> y J.C. García-Pagán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Hemodinamia Hepática, Unidad de Hígado, hospital Clínic, Barcelona, España. <sup>2</sup>Liver unit, Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, Reino Unido. <sup>3</sup>Service d'Hépatologie, Hôpital Beaujon, Clichy, Francia. <sup>4</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, Erasmus medical center, Rotterdam, Holanda. <sup>5</sup>Gastroenterologia, Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Milan, Italia. <sup>6</sup>Istituto Mediterraneo dei Trapianti e Terapie ad alta Specializzazione (ISMETT), Palermo, Italia.

El Síndrome de Budd-Chiari (SBC) es una entidad que cursa con insuficiencia hepática e hipertensión portal, afecta habitualmente a gente joven, y tiene una elevada morbi-mortalidad. En pequeñas series de pacientes, el TIPS ha mostrado ser útil en el tratamiento de pacientes con SBC en los que ha fracasado el tratamiento médico, reservándose el trasplante hepático (TOH) ante el fracaso del TIPS. No obstante, el verdadero impacto del TIPS sobre la supervivencia y los posibles factores predictivos de evolución post-TIPS no han sido nunca evaluados.

**Objetivos.** Describir en una amplia serie de pacientes con SBC tratados con TIPS, el impacto sobre la supervivencia y los factores asociados a mal pronóstico.

**Métodos.** Se incluyeron 124 pacientes consecutivos tratados, entre julio de 1993 y marzo de 2006, con TIPS por fracaso del tratamiento médico previo, en 6 centros de referencia (Reino Unido, Francia, Italia (x2), Holanda y España). Se registraron variables etiológicas, analíticas y clínicas al momento del diagnóstico y de la colocación del TIPS.

**Resultados.** El seguimiento medio fue de 3,1 años. La indicación de TIPS fue ascitis refractaria (n = 73); insuficiencia hepática (n = 27); hemorragia variceal (n = 12) y otras manifestaciones de hipertensión portal (n = 12). De acuerdo con la clasificación de gravedad de SBC de Rotterdam, 81 pacientes pertenecían al grupo de riesgo intermedio (supervivencia sin TOH estimada del 74% a 5 años) y 40 al de riesgo elevado (supervivencia sin TOH estimada de 42% a 5 años). En nuestra serie se produjeron 24 eventos; 16 muertes y 8 TOH (10 muertes y 2 TOH al año). La supervivencia sin TOH a 1 y 5 a. fue del 88% y 78% respectivamente. La supervivencia de esta serie fue superior a la estimada según el score de gravedad de Rotterdam, especialmente en los pacientes de riesgo elevado, cuya supervivencia a 5 años fue del 71% (frente a una estimada del 42%). En los pacientes de riesgo intermedio la supervivencia sin TOH a 5 años fue del 82 (estimada 74%). El análisis multivariado de COX identificó 3 variables asociadas de forma independiente con el riesgo de muerte-TOH al año post-TIPS: edad (HR 1,086; IC95%: 1,031-1,143), bilirrubina (HR 1,171; 1,083-1,267) e INR (HR 1,876; 1,133-3,104). La capacidad discriminativa de este nuevo score fue muy buena (estadístico-C: 0,86) y muy superior a la del score de Rotterdam (estadístico-C: 0,68). La probabilidad de muerte/TOH al año fue del 87,5% en pacientes con un score superior a 7 (n = 8) e inferior al 5% en todos los restantes (n = 114).

**Conclusiones.** Los resultados del presente estudio confirman los excelentes resultados del TIPS a largo plazo en pacientes con SBC y muestran que este tratamiento mejora la supervivencia, especialmente en la población de alto riesgo. Además, es posible identificar una pequeña subpoblación de pacientes con SBC que tiene mal pronóstico a pesar del TIPS y que podrían beneficiarse de una indicación precoz (priorizada) de TOH.

### ACTIVACION DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE PI3K/AKT EN HEPATOCARCINOMA: EVIDENCIA DE SU BLOQUEO A TRAVÉS DE UN NUEVO INHIBIDOR DUAL DE LA TIROSIN-KINASA (AEE788) Y DE UN INHIBIDOR DE MTOR (RAD001, EVEROLIMUS)

A. Villanueva<sup>1</sup>, J. Peix<sup>1</sup>, A. Di Feo<sup>2</sup>, S. Van Laarhoven<sup>1</sup>, E. Lemmer<sup>1</sup>, M.I. Fiel<sup>1</sup>, S. Thung<sup>1</sup>, S. Yea<sup>1</sup>, S. Roayaie<sup>1</sup>, Y. Chen<sup>1</sup>, M. Schwartz<sup>1</sup>, J. Martignetti<sup>2</sup>, S.L. Friedman<sup>1</sup> y J.M. Llovet<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Division of Liver Diseases and Liver Cancer Program. <sup>2</sup>Human Genetics. Mount Sinai School of Medicine, New York. BCLC Group. <sup>3</sup>Liver Unit. <sup>3</sup>IDIBAPS. Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

**Introducción.** El carcinoma hepatocelular (CHC) avanzado carece de tratamiento efectivo y por ello se asocia a elevadas cifras de morbi-mortalidad. El conocimiento exhaustivo de los mecanismos moleculares inherentes al desarrollo de CHC es fundamental para el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas.

**Objetivos.** Estudiar el grado de activación de la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR en la hepatocarcinogenesis humana, así como analizar el efecto de su bloqueo con un nuevo inhibidor dual de la tirosin-kinasa asociado a un inhibidor de mTOR.

**Material y métodos.** Estudiamos por qRT-PCR (Taqman) la expresión de 9 genes de la vía de señalización Akt/mTOR (EGF, EGFR, IGFII, IGFBP3, IGFRII, Akt, PTEN, mTOR y RICTOR) en 78 muestras humanas. Asimismo, estudiamos la expresión de PTEN y de las formas fosforiladas (activadas) de Akt, EGFR y mTOR a nivel proteico mediante inmunohistoquímica. Incubamos 3 líneas celulares de CHC (Huh-7, Hep G2, Hep 3B) con concentraciones crecientes de un inhibidor de EGFR/Her2/VEGFR (AEE788, Novartis) y un inhibidor de mTOR (RAD001, everolimus: Novartis-Pharma AG, Basel, Switzerland). Analizamos su efecto sobre la viabilidad (*MTT Assay*) y la proliferación (Incorporación de 3[H] Timidina) celular así como su impacto en el ciclo celular (Citometría de Flujo). La eficacia del bloqueo la evaluamos mediante Western Blot. Además, empleamos un *luciferase gene reporter* de la región promotora de *c-fos* para asegurar una correcta disrupción de la señalización a través de EGFR.

**Resultados.** Existe una sobreexpresión de 5 veces de EGF y IGF-II en CHC (p < 0,01), mientras que los supresores tumorales PTEN y IGFBP3 están significativamente infraexpresados (p < 0,01). 25% de las muestras presentaron positividad para p-Akt en comparación con tejido no tumoral (10/40 vs 2/33, p = 0,001). AEE788 [0,5 µM-10 µM] disminuyó la viabilidad celular entre un 65-83%. RAD001 [20nM] la disminuyó entre un 28-44% y la combinación de ambos la redujo un 66-88% (todos p < 0,02). Con respecto a la proliferación celular, AEE788 disminuyó la incorporación de 3[H] Timidina un 97% (p < 0,002). AEE788 indujo arresto celular en la fase G2/M del ciclo celular e incrementó la apoptosis en un 40% (p < 0,05). AEE788 bloqueó la fosforilación de EGFR, Akt, ERK, p70S6 y RAD001 bloqueó la fosforilación de S6. Evidenciamos disminución significativa de actividad luciferasa asociada al promotor de *c-fos*

tras estimulación con EGF en aquellas células pretratadas con AEE788, lo que reafirma un bloqueo completo.

**Conclusiones.** La vía de señalización de PI3k/Akt está activada en un subgrupo de CHC. El bloqueo de esta vía con una nueva combinación de drogas (AEE788 y RAD001) disminuye la viabilidad celular, la proliferación e incrementa la apoptosis en líneas celulares tumorales. La eficacia de esta nueva terapia molecular anti-tumoral debe validarse en modelos animales.

#### DESARROLLO DE LA ESCALA CHES: UNA ESCALA CLÍNICA PARA GRAVAR LA GRAVEDAD DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

M. Ortiz<sup>1</sup>, J. Córdoba<sup>1</sup>, E. Doval<sup>2</sup>, C. Jacas<sup>3</sup>, J.M. Pujadas<sup>4</sup>, R. Esteban<sup>1</sup> y J. Guardia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna-Hepatología del Hospital Valle Hebrón.

<sup>2</sup>Departamento de Psicobiología de la Universidad Autónoma de Barcelona.

<sup>3</sup>Unidad de Neuropsicología del Hospital Valle Hebrón.

<sup>4</sup>Servicio de Neurología del Hospital Valle Hebrón, Barcelona.

**Introducción.** Las manifestaciones clínicas de la encefalopatía hepática son fluctuantes y variadas, lo que dificulta la graduación. Las escalas clínicas disponibles, como la escala de West-Haven, se basan en criterios arbitrarios y no han sido sometidas a validación.

**Objetivos.** Documentar las manifestaciones clínicas en grados variables de encefalopatía hepática y desarrollar una escala clínica para determinar la gravedad de la misma (escala CHES: *Clinical Hepatic Encephalopathy Staging Scale*).

**Métodos.** Un grupo multidisciplinar creó un cuestionario de 48 manifestaciones neurológicas y funcionales, simples de reconocer y categorizar por parte del médico. Se evaluó de forma repetida en distintos días (108 evaluaciones) en un grupo de 36 pacientes con cirrosis y encefalopatía. Además, se completó la escala de West Haven adaptada, la escala de Glasgow y un índice de cambio global. El cuestionario fue sometido a una reducción de elementos mediante el análisis de componentes principales (ACP) y se analizaron las características métricas de la versión reducida.

**Resultados.** Se hallaron múltiples alteraciones neurológicas que no seguían la distribución de la escala de West-Haven. A partir de las mismas se construyó una escala de 9 preguntas simples (p.ej: ¿Sabe el mes en el que está? ¿Es capaz de contar hacia atrás de 10 a 1? ¿Está despierto y alerta?...). El ACP obtuvo dos factores que explicaban el 77% de la varianza del CHES. La escala CHES mostró una elevada fiabilidad (alfa de Cronbach's > 0,8), reproducibilidad (correlación intraclase 0,9), y validez de criterio en relación a la escala de West Haven adaptada (r = 0,64), la escala de Glasgow (r = -0,79) y el índice de cambio global (r = -0,57).

**Conclusión.** Los pacientes con encefalopatía hepática presentan múltiples manifestaciones neurológicas. Sin embargo, una escala simple de 9 preguntas con respuestas dicotómicas (escala CHES) permite graduar de forma continua la intensidad de la misma. Esta escala presenta buenas características métricas, por lo que puede ser de gran utilidad para homogeneizar la medición de la encefalopatía hepática entre diversos evaluadores y centros.

#### LA APELINA, UN NUEVO PÉPTIDO NEUROENDOCRINO, DESEMPEÑA UNA IMPORTANTE FUNCIÓN FISIOPATOLÓGICA EN LA DISFUNCIÓN CARDIOVASCULAR PRESENTE EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

A. Príncipe<sup>2</sup>, G. Fernández-Varo<sup>1</sup>, P. Melgar-Lesmes<sup>1</sup>, V. Arroyo<sup>1</sup>, J. Rodés<sup>1</sup>, y W. Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular y Unidad de Hepatología - Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universidad de Barcelona, Barcelona. <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Cardioangiologia e Epatologia, Università di Bologna.

**Introducción.** La Apelina es un neuropéptido hipofisario recientemente descrito que inhibe la secreción de la hormona antidiurética.

La Apelina también se expresa en otros tejidos periféricos, especialmente bazo y pulmón, y actúa sobre la circulación sistémica como vasodilatador e inotrópo positivo. Estudios recientes han demostrado una estrecha relación entre la progresión de la enfermedad hepática y la excreción urinaria de Apelina en ratas cirróticas con ascitis.

**Objetivos.** En el presente estudio se investigó la posible relación entre los efectos de este péptido y la patogénesis de las anomalías cardiovasculares que ocurren en las ratas cirróticas con ascitis.

**Métodos.** Se diseñaron dos series de experimentos. En la primera analizamos la función excretora renal y la hemodinámica sistémica antes y después de la administración de Apelina-13 a ratas control (n = 12) y cirróticas (n = 12) con ascitis. En la segunda serie medimos los mismos parámetros antes y después de la administración de F13A, un antagonista específico de Apelina.

**Resultados.** Tras una sobrecarga de agua la administración de Apelina produjo una disminución significativa de la excreción de agua (100,3 ± 1,5% vs 80,3 ± 3,2%, p < 0,005) y sodio (0,013 ± 0,05 vs -0,63 ± 0,2 µEq/min, p < 0,05) en ratas control respecto a valores basales, no observándose tal efecto en las cirróticas. La Apelina-13 disminuyó la presión arterial media (PAM: 117 ± 3,10 vs 100 ± 2,41 mmHg, p < 0,005) e incrementó el índice cardíaco (IC: 0,38 ± 0,01 vs 0,54 ± 0,04 ml/g · min, p < 0,005) en ratas control pero no produjo efectos significativos en ratas cirróticas con ascitis. Por otra parte, el bloqueo del receptor de Apelina, mejoró significativamente la excreción renal de agua (91,3 ± 4,7% vs 118,1 ± 3,7%, p < 0,005) y sodio (-0,0187 ± 0,043 µEq/min vs 0,187 ± 0,07 µEq/min, p < 0,05) respecto a valores basales y la hemodinámica sistémica (IC: 0,80 ± 0,02 vs 0,58 ± 0,01 ml/g · min, p < 0,0001; resistencias periféricas totales: 0,23 ± 0,02 vs 0,31 ± 0,02 mmHg · min/ml, p < 0,01) en las ratas cirróticas en comparación con las ratas tratadas con vehículo. El hallazgo más interesante de este estudio fue que el antagonista actuó principalmente como agente inotrópico negativo provocando un decremento del IC de alrededor del 30% sin efectos significativos sobre la PAM. La administración de F13A no produjo efectos significativos en las ratas control.

**Conclusiones.** En las ratas cirróticas con ascitis se produce una resistencia vascular general a la administración exógena de la Apelina, mientras que el bloqueo endógeno de la acción del péptido mejora la función cardíaca y renal en estos mismos animales. Estos resultados sugieren que la Apelina se encuentra involucrada en la patogénesis de las alteraciones hemodinámicas y renales características de la cirrosis hepática y que podría jugar un papel en el desarrollo de la cardiomiopatía cirrótica.

#### ESTUDIO PROSPECTIVO DE LAS MUTACIONES EN LAS REGIONES E2-PEPHD, NS5-PKRDB, NS5A-ISDR Y NS5A-V3 DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) GENOTIPO 1, Y SU RELACIÓN CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO (IFN-PEG) Y RIBAVIRINA (RBV)

J. Casado, P. Muñoz de Rueda, A. Gila, R. Patón, D. Quintero, L. Rodríguez, J. León, R. Quiles, A. Ruiz Extremera y J. Salmerón

Unidad de Ap. Digestivo. Hospital Universitario "San Cecilio". Granada.

**Introducción.** El tratamiento en la infección por el VHC es el IFN-peg en combinación con RBV, aunque la tasa de respuesta no supera el 54%. La respuesta al tratamiento se ha relacionado con las mutaciones en las proteínas E2 y NS5A del genoma viral, aunque aún existe mucha controversia.

**Objetivos.** Estudiar la relación entre la heterogeneidad genética de las regiones E2-PePHD, NS5-PKRDB, NS5A-ISDR y NS5A-V3 del VHC y la resistencia al tratamiento con IFN-peg y RBV.

**Pacientes y Métodos.** Estudio prospectivo de 60 pacientes con hepatitis C crónica genotipo 1 (1b, n = 47 y 1a, n = 13), tratados con IFN-peg más RBV. El 50% eran ≤ 40 años, y en el 80% la carga viral > 600.000 UI/mL. En función de la respuesta al tratamiento se clasificaron en respuesta virológica sostenida (RVS: 36, 60%) y no respondedores (NR: 24, 40%). En las muestras de suero basal se ob-

tuvieron las secuencias dominantes situadas entre los aminoácidos 2191 al 2405, que incluyen las regiones NS5A-PKRBD, NS5A-ISDR, NS5A-V3 del VHC. La región E2-PePHD fue secuenciada en 23 pacientes (11 RVS y 12 NR). Además se realizó un análisis de la evolución de las mutaciones del virus (regiones NS5A) durante y después del tratamiento en 18 pacientes (3 RVS, 15 NR).

**Resultados.** Los únicos factores asociados con la RVS fueron la edad  $\leq 40$  años ( $P = 0,03$ ), y  $> 4$  mutaciones en la región PKRBD codones 2209-2274 ( $P = 0,001$ ). La presencia de mutaciones en la región ISDR codones 2209-2248 estaba en los límites de la significación estadística ( $P = 0,07$ ). En cambio, en la región V3 codones 2356-2379, había una alta variabilidad genética, y no se relacionó con la RVS. Solo dos pacientes presentaban alguna mutación en la región E2-PePHD, siendo el resto de tipo salvaje. En la regresión logística el único factor independiente de RVS fue  $> 4$  mutaciones en la región PKRBD ( $P = 0,004$ ), con una especificidad del 92% (95% IC, 72%; 99%) y un valor predictivo positivo del 89,5% (IC al 95% fue del 65%; 98%). En esta región, los pacientes con carga viral  $< 600.000$  UI/ml ( $P = 0,001$ ) y los hombres ( $P = 0,0001$ ) presentaban más mutaciones. También  $> 4$  mutaciones en la región PKRBD se relacionó con el ARN-VHC negativo a las 8 ( $P = 0,02$ ) y 12 semanas (respuesta virológica precoz-RVP-,  $P = 0,009$ ), pero no a las 4 semanas. En la ISDR, los pacientes con más mutaciones eran más jóvenes ( $< 40$  años,  $P = 0,03$ ), hombres ( $P = 0,05$ ) y con una carga viral  $< 600.000$  UI/mL ( $P = 0,02$ ). En el estudio evolutivo no había cambios de aminoácidos en las diferentes regiones, tanto en los pacientes con RVS como NR.

**Conclusión.** La presencia de  $> 4$  mutaciones en la región PKRBD es un factor predictivo de RVS y RVP al tratamiento en los paciente con genotipo 1 del VHC.

#### CAPTURA, EXPANSIÓN Y RESTAURACIÓN FENOTÍPICA Y FUNCIONAL DE CD4-ESPECÍFICAS PARA NS3 DEL VHC

M. Bes<sup>1</sup>, S. Sauleda<sup>1</sup>, J. Quer<sup>2</sup>, M. Cubero<sup>2</sup>, J. Guardia<sup>2</sup>, Ll. Puig<sup>1</sup>, R. Esteban<sup>2</sup> y J.I. Esteban<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Banc de Sang i Teixits, Barcelona. <sup>2</sup>Medicina Interna-Hepatología, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona.

**Introducción.** Numerosas evidencias sugieren que la persistencia del virus de la hepatitis C (VHC) se debe a un estado de anergia o tolerancia adaptativa de la respuesta CD4 Th1 específica para antígenos no estructurales. Dicho estado sería potencialmente reversible en ausencia del estímulo antigénico inductor de anergia.

**Objetivos.** Seleccionar linfocitos CD4 NS3-específicos a partir de sangre periférica de un paciente con infección persistente y determinar el grado de restauración funcional tras su expansión en ausencia de estímulo antigénico.

**Métodos.** Se obtuvieron linfocitos a partir de sangre periférica de una pareja de pacientes expuestos a un inóculo común con evolución opuesta (infección persistente: paciente A; infección resuelta espontáneamente: paciente B). Tras estímulo con NS3 recombinante y mediante inmunocaptura magnética, se seleccionaron los linfocitos CD4+/CD154+. Estos se expandieron en medio complementado con IL-7/IL-15 durante 3 semanas. La caracterización fenotípica se realizó por citometría de flujo (CD4/CD45RO/CCR7/CD62L). La caracterización funcional se midió por ELISPOT de IFN-g y los resultados se expresaron en células formadoras de spots por 105 células CD4+ (SFU/105).

**Resultados.** El proceso completo en el paciente A consiguió expandir en 1 logaritmo los CD4 antígeno específicos. Tras la expansión, la proporción de CD4+/CCR7+/CD62L (memoria central) se dobló respecto a la proporción inicial, mientras que las células efectoras (CD4+/CCR7-/CD62L-) disminuyó a un tercio. La producción de IFN-g (respuesta Th1) medida en las células CD4+/CD154+ fue de 725 SFU/105, es decir, 100 veces superior a la producción basal (8 SFC/105). En el paciente B, en cambio, no se observó cambio en la

proporción de CD4 de memoria central y efectora tras la expansión, y la producción de IFN-g apenas se duplicó (925 SFU vs 1575 SFU, basal y tras expansión, respectivamente).

**Conclusiones.** Es posible seleccionar CD4 NS3 específicas en pacientes con infección persistente, modificar su fenotipo y restaurar su capacidad de producir IFN-g mediante expansión con citoquinas homeostáticas y en ausencia del estímulo antigénico. Ello confirma la presencia y anergia antígeno-específica reversible y plantea la posibilidad de diseñar estrategias de inmunoterapia adaptativa como complemento a la terapia antiviral e incluso la prevención de la recurrencia postransplante.

#### MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ANGIOPOYETINA-2 POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C: IMPLICACIÓN DE MAPK, PI3K Y ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS)

P. Sanz-Cameno<sup>1</sup>, S. Martín-Vílchez<sup>1</sup>, Y. Rodríguez-Muñoz<sup>1</sup>, M.J. Borque<sup>2</sup>, J.A. Moreno-Monteagudo<sup>1</sup>, M. López-Cabrera<sup>2</sup>, y R. Moreno-Otero<sup>1</sup>

Unidad de <sup>1</sup>Hepatología y <sup>2</sup>Biología Molecular, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid.

La enfermedad hepática derivada de la infección por los virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC) resulta de la ineficacia del sistema inmune para erradicar el virus, circunstancia que provoca un daño hepático continuado caracterizado por la existencia de infiltrados inflamatorios, fibrosis y angiogénesis intrahepática, con una elevada tasa de evolución a cirrosis y hepatocarcinoma. Dichos acontecimientos reflejan un desequilibrio en la regulación de la homeostasis vascular, proceso en el que el sistema Angiopoyetinas/Tie2 juega un importante papel. Resultados recientes obtenidos por nuestro grupo han revelado un incremento de la expresión intrahepática de Angiopoyetina-2 (Ang2) en pacientes con hepatitis crónica C (XXXI congreso de la AEEH) y B, mediado por HBx (Sanz-Cameno et al., 2006). El OBJETIVO del presente trabajo es analizar la implicación del VHC en la expresión de Ang2 y su modulación a través de diversas vías de señalización celular: MAPK, PI3K y ROS.

**Métodos.** La expresión de Ang2 fue evaluada mediante western blot en líneas celulares hepáticas transfectadas establemente con el replicón del genoma completo del VHC o con el codificante de las proteínas no estructurales, clones I389/Core-3' y I377/NS3-3', respectivamente (Bartenschlager, 2002), y en la línea parental derivada de hepatocitos humanos, Hu7H. Todas estas líneas fueron sometidas a distintos tratamientos, PD98059, LY294002 y Ebselen, a 25 microM durante 48 horas, para inhibir o modular diversas rutas de señalización intracelular: MAPK, IP3K y ROS, respectivamente.

**Resultados.** Se observó un incremento de la expresión de ambas isoformas de Ang2 en la línea celular transfectada con el replicón correspondiente al genoma completo del VHC frente a la línea parental y a la que expresaba exclusivamente las proteínas no estructurales del virus. El tratamiento con los inhibidores de la ruta de la MAPK y de la PI3K, así como con el antioxidante Ebselen, reflejó una influencia diferencial en la expresión de ambas isoformas de Ang2, con un notable aumento de la involucrada en procesos tumorales e inflamatorios (50 KDa) frente a la isoforma tradicional (64 KDa) al bloquear la vía de señalización mediada por la PI3K.

**Conclusiones.** 1) El aumento más pronunciado de la expresión de Ang2 en el replicón del genoma completo del VHC indica que su modulación viene mediada principalmente por las proteínas estructurales de este virus. 2) La regulación diferencial de las isoformas de Ang2 por distintas vías de señalización celular puede representar un importante punto de control de la quiescencia vascular en respuesta al microambiente tisular y contribuir notablemente al esclarecimiento de los mecanismos patogénicos implicados en el establecimiento y evolución de ésta y otras enfermedades inflamatorias crónicas.

## Sesión general 5

Moderadores: Carmen Berasain. (Pamplona). Angel Palacio. (Granada).

### INFLUENCIA DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA, FIBROSIS, OBESIDAD Y DOSIS DE RIBAVIRINA EN LA DINÁMICA VIRAL EN PACIENTES CON HEPATITIS C GENOTIPO 1 TRATADOS CON PEGINTERFERON Y RIBAVIRINA

L. Grande, A. Madrazo, R. Corpas, I. Camacho, M.M. Viloría, M.C. Nogales y M. Romero-Gómez

UGC Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

**Introducción.** La resistencia a la insulina, la fibrosis y el genotipo viral predicen la posibilidad de curación. Así también, la dosis de ribavirina puede influir en la respuesta al tratamiento. El momento en que estos factores ejercen su efecto no es bien conocido.

**Objetivos.** Analizar el impacto de los factores de huésped (fibrosis, obesidad, resistencia a la insulina), y de la dosis de ribavirina en la dinámica viral durante los primeros meses en pacientes con hepatitis C genotipo 1 tratados con interferon pegilado alfa y ribavirina.

**Pacientes y métodos.** Incluimos 75 pacientes con hepatitis C diagnosticada por biopsias con ALT elevada, ARN VHC positivo y ausencia de datos de infección por virus B o VIH. Se realizó determinación basal de la carga viral (Cobas Amplicor 2.0, Roche), a las 48 horas, 28 días y 12 semanas, así como a los 6 meses de seguimiento tras finalizar el tratamiento. Calculamos la fase 1, fase 2, mes 1 (caída carga viral 1º mes) y mes 3 (caída carga viral en el mes 3). Calculamos la resistencia a la insulina [HOMA = Insulina (mUI/L) \* glucosa (mmol/L)/ 22,5], el índice de masa corporal y se valoró la fibrosis de F0 a F4 según Scheuer.

**Resultados.** Presentaban HOMA > 2 (32%), fibrosis avanzada (24%), IMC > 25 Kg/m<sup>2</sup> (70%). Tomaban dosis fijas de ribavirina de 800 mg (n = 19) y dosis ajustada a peso (1000-1200 mg/día) (n = 56). Todos los pacientes con HOMA ≤ 2 alcanzaron respuesta viral temprana frente a sólo el 61,5% de los pacientes con HOMA > 2. La dosis de ribavirina no influyó en la dinámica viral, mientras que un HOMA > 2 se asoció a una menor caída de la carga viral en la fase 1 y fase 2 (tabla 1). El factor predictivo de respuesta que mostró más seguridad de predicción de respuesta sostenida fue un descenso de la carga viral en el primer mes de más de 1,45 log. Utilizando este criterio clasificamos a los pacientes en dinámica viral favorable o no e incluimos esta variable como dependiente en un análisis de regresión logística, la única variable independiente predictiva de DV favorable fue la resistencia a la insulina (O.R: 7,19 (1,3-40,0); p < 0,02), mientras que la edad, sexo, IMC y fibrosis quedaron excluidas del modelo.

\*\*P<0,004

		IMC < 25 Kg/m <sup>2</sup>	RBV 800 mg/d	HOMA IR < 2
Fase 1	Si	-1,17 ± 1,03	-1,25 ± 1,52	-1,63 ± 1,31
	No	-1,06 ± 0,94	-1,06 ± 0,90	-0,91 ± 0,96
Fase 2	Si	-1,36 ± 1,19	-1,79 ± 1,27	-2,21 ± 1,05**
	No	-1,97 ± 1,03	-1,51 ± 1,23	-1,11 ± 1,24**
Mes 1	Si	-2,28 ± 1,55	-2,21 ± 1,35	-2,75 ± 1,53
	No	-2,60 ± 1,33	-2,35 ± 1,62	-1,86 ± 1,48
Mes 3	Si	-3,71 ± 1,83**	-4,00 ± 1,60	-4,93 ± 0,40**
	No	-4,69 ± 0,95**	-3,90 ± 1,76	-3,14 ± 2,08**

**Conclusiones.** La resistencia a la insulina dificulta la actividad anti-viral del interferón en las primeras fases del tratamiento, mientras

que la dosis de ribavirina no parece influir en este período. El tratamiento de la resistencia a la insulina podría mejorar la dinámica viral y aumentar la tasa de respuesta sostenida.

### IMPLICACIÓN DE LA VÍA DE LA 5-LIPOOXIGENASA EN LA REGULACIÓN DEL TRANSPORTE DE TRIGLICÉRIDOS EN HEPATOCITOS Y EN EL DESARROLLO DE ESTEATOSIS

M. López-Parra<sup>1</sup>, E. Titos<sup>1</sup>, R. Horrillo<sup>1</sup>, N. Ferré<sup>1</sup>, A. González-Pérez<sup>1</sup>, A. Planagumà<sup>1</sup>, R. Miquel<sup>2</sup>, V. Arroyo<sup>3</sup>, J. Rodés<sup>3</sup> y J. Clària<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, <sup>2</sup>Servicio de Anatomía Patológica y <sup>3</sup>Unidad de Hígado, Hospital Clínic, IDIBAPS, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

Estudios recientes han identificado a la vía de la 5-lipooxigenasa (5-LO) como una posible diana terapéutica en la obesidad, resistencia a la insulina y aterosclerosis. De hecho, tanto en pacientes como en modelos experimentales con síndrome metabólico, existe una estrecha relación entre la expresión de la 5-LO y la presencia de obesidad, hiperlipidemia y resistencia a la insulina. Además, la expresión de la 5-LO colocaliza con las células inflamatorias en la placa de ateroma y constituye un factor de riesgo en la aterosclerosis. En el presente estudio, se investigó si la vía de la 5-LO está implicada en la regulación del metabolismo lipídico hepático y en el desarrollo de esteatosis. El estudio se llevó a cabo en ratones deficientes en leptina (ratones *ob/ob*), un modelo experimental que reproduce las alteraciones metabólicas que se manifiestan en la esteatohepatitis no alcohólica humana. En estos animales, la administración oral de un inhibidor selectivo de la 5-LO (CJ-13,610, 16 mg/kg durante 3 semanas, n = 8) redujo de forma significativa la deposición de lípidos en el hígado, evaluada mediante la cuantificación morfométrica del área teñida con Oil Red-O. En los ratones *ob/ob* tratados con CJ-13,610 se observó también un descenso de los niveles hepáticos de triglicéridos (TAG) sin cambios en las concentraciones de colesterol y ácidos grasos libres. El efecto hepatoprotector asociado a la inhibición farmacológica de la 5-LO se confirmó mediante la inhibición genética de esta vía en ratones deficientes para el gen de la 5-LO (5-LO<sup>-/-</sup>), los cuales presentaron una menor susceptibilidad que los animales *wild-type* (ratones 5-LO<sup>+/+</sup>) a desarrollar esteatosis hepática en respuesta al tetracloruro de carbono. El análisis por microarrays del perfil de expresión génica hepática entre estos dos grupos de animales demostró la expresión diferencial en ratones 5-LO<sup>-/-</sup> de genes involucrados en el metabolismo lipídico (CCAAT/enhancer binding protein beta (C/EBP), carboxilesterasa 3, esteroil coenzima A desaturasa 2 (Scd2), ATP-citrato liasa (Acly) y factores de elongación de ácidos grasos de cadena larga (Elovl3 y Elovl6)). La implicación de la vía de la 5-LO en el desarrollo de esteatosis se confirmó en estudios *in vitro* en hepatocitos en cultivo, en los cuales los leucotrienos B<sub>4</sub> y D<sub>4</sub>, los principales productos de la vía de la 5-LO, provocaron un aumento concentración-dependiente de la acumulación intracelular de TAG, acompañado de un descenso de su liberación al medio de cultivo. Estos cambios en el transporte hepatocitario de TAG se asociaron a un descenso de la actividad de la proteína microsomal de transferencia de TAG (MTP), sin cambios en la expresión de genes lipogénicos como la enzima ácido graso sintasa (FAS) y el factor de transcripción SREBP-1c. En conjunto, estos resultados indican que la vía de la 5-LO está involucrada en la patogénesis de la esteatosis hepática, posiblemente a través de la regulación del transporte de TAG en el hepatocito.

### LA FIBRONECTINA PROTEGE A LAS CÉLULAS ESTRELLADAS DEL HÍGADO FRENTE A LA APOPTOSIS A TRAVÉS DE UNA VÍA DE TRADUCCIÓN DE SEÑAL DEPENDIENTE DE LAS MITOCONDRIAS Y DE LA FOSFATIDIL INOSITOL 3-KINASA

J.C. Rodríguez, P. de la Torre, T. Díaz-Sanjuán, I. García-Ruiz, L. García-Pozo y J.A. Solís-Herruzo

Centro de Investigación. Hospital "12 de Octubre". Universidad Complutense. Madrid.

La supervivencia de las células estrelladas del hígado (CEH) depende de múltiples factores, incluyendo su adhesión a la matriz extracelular (MEC) y la presencia en el suero de factores de crecimiento. La fibronectina (FN) se comporta como un factor fibrogénico. En diversas líneas celulares, incluidas las CEH, aumenta la resistencia de las células a su muerte por apoptosis. Se desconocen los mecanismos por los cuales la FN previene la apoptosis de las CEH.

**Objetivo.** Determinar las vías intracelulares por las que la FN protege a las CEH frente a la apoptosis.

**Material y métodos.** Las CEH, aisladas del hígado de rata, fueron sembradas en placas de cultivo, cubiertas o no de FN, y se cultivaron en presencia o ausencia de 20% de suero de ternera fetal. Se determinó la apoptosis en las células flotantes o adheridas a la placa utilizando el "kit" de ROCHE Diagnostics GmbH. Germany. Las vías de transmisión de señal fueron analizadas detectando los mediadores de señal fosforilados e inhibiendo estas vías con inhibidores adecuados y específicos.

**Resultados.** (1) Tras 72 horas sin suero, el índice de apoptosis de las CEH cultivadas sin FN aumentó 2,51 veces ( $p < 0,001$ ). Cuando estas células crecieron sobre placas cubiertas de FN, el índice apoptótico descendió el  $34 \pm 2,8\%$ . (2) Este efecto protector, antiapoptótico, de la FN desapareció cuando las células crecieron sobre FN en presencia del péptido RGD, que inhibe la unión de las células a la FN a través de receptores integrina. (3) La transfección de las CEH con anticuerpos anti-FAK también tiene ese mismo efecto. Al mismo tiempo, FAK fosforilado en tirosina 397 aumentó en las CEH tras 15-120 min. de incubación sobre FN. (4) El cultivo de las CEH sobre FN en presencia de wortmanina (100 nM) o de LY294002 (12,5  $\mu$ M), pero no en presencia de gliotoxina (100-200 ng/ml) (inhibidor de NF $\kappa$ B), SP600125 (5-20  $\mu$ M) (inhibidor de Jun N-terminal Kinase) o PD98059 (50  $\mu$ M) (bloqueante de ERK), aumentó significativamente el índice de apoptosis en las células crecidas sobre FN. Estos resultados indican la participación de PI3K en la transmisión de señal provocada por la FN. (5) Tras 15-30 min. de incubación de las CEH sobre FN, aumenta Akt fosforilado en serina<sup>473</sup>, lo que sugiere la participación de esta cinasa. (6) El cultivo de las CEH sobre FN evitó la salida del citocromo *c* desde las mitocondrias al citoplasma, lo que indica la participación de las mitocondrias en la protección de las CEH. Este efecto se asoció con un aumento de Bcl<sub>x</sub>, de la fosforilación de Bad (por Akt) y de la pérdida de actividad de la Caspasa 9 y 3. Ambos factores se comportan como antiapoptóticos.

**Conclusión.** La FN aumenta la supervivencia de las CEH. En este efecto intervienen la unión de la FN a las integrinas, la activación de FAK, PI3K y de Akt. Además, la FN evita la salida del citocromo *c* de las mitocondrias tras disminuir las proteínas proapoptóticas (Bad) y aumentar las antiapoptóticas (Bcl<sub>xL</sub>).

### ANÁLISIS DE LA EFICACIA DE UNA DURACIÓN MÁS PROLONGADA DEL TRATAMIENTO CON PEGIFN ALFA-2A Y RIBAVIRINA E IMPACTO DE LA DOSIS DE RIBAVIRINA AJUSTADA AL PESO EN PACIENTES VIH-POSITIVOS CON HEPATITIS CRÓNICA C: RESULTADOS DEL ESTUDIO PRESCO

M. Romero, M. Núñez, J. Portu, I. Santos, L. Bonet, M. Cordero, M. González, P. López-Serrano, J.J. Hernández-Burruezo, J. García-Samaniego y V. Soriano  
Coordinación Hospital Carlos III. Madrid.

**Introducción.** El tratamiento de la hepatitis crónica C se ha convertido en una prioridad en los pacientes VIH+ por la mayor progre-

sión a cirrosis y enfermedad hepática terminal de la población coinfectada. La respuesta al tratamiento antiviral en estos pacientes es inferior a la observada en los mono infectados por VHC.

**Pacientes y métodos.** PRESCO es un estudio abierto, prospectivo, multicéntrico en el que pacientes con coinfección VIH/VHC con elevación persistente de ALT y *naïves* para el VHC recibieron tratamiento con peginterferon alfa-2a (180 mg/semana) y ribavirina (1000 mg/día para < 75 Kg; 1200 mg/día para > 75 kg). Los pacientes con genotipos 1 y 4 (61%) fueron tratados durante 48 o 72 semanas, y los pacientes con genotipos 2 y 3 (39%) recibieron tratamiento durante 24 o 48 semanas. En los pacientes que no alcanzaron la respuesta virológica precoz se interrumpió el tratamiento a las 12-24 semanas.

**Resultados.** Se incluyeron un total de 389 pacientes [137 (61%) con genotipos 1/4 y 67% con niveles de ARN-VHC > 800.000 UI/ml]. El tratamiento se interrumpió prematuramente en el 46% de los pacientes debido a: fallo virológico primario en el 17%, efectos adversos graves en el 7%, y abandono voluntario o pérdida de seguimiento en el 22%. En un análisis por intención de tratamiento la tasa de respuesta virológica sostenida (RVS) fue del 49%, significativamente mayor en los pacientes con genotipos 2/3 (71%) que en los 1/4 (35%) ( $p < 0,0001$ ). No se observaron diferencias significativas en la RVS entre los pacientes con mayor o menor duración del tratamiento. Las recaídas en función de la duración del tratamiento y el genotipo se muestran en la tabla. Los genotipos 2/3, la cifra basal de ARN-VHC, y la negatividad del ARN-VHC en la semana 12 fueron predictores de RVS en el análisis multivariante.

	VHC-1/4	VHC-2/3	Todos*
<b>Estándar</b>	35/108 (25,9%)	14/81 (17,3%)	49/189 (26%)
<b>Prolongada</b>	3/9 (33,3%)	7/45 (15,5%)	10/54 (16,9%)
<b>Todos**</b>	38/117 (32,4%)	21/126 (16,7%)	59/243 (24,8%)

\* $p = 0,2$  Cualquier genotipo duración estándar vs prolongada. \*\* $p = 0,01$  VHC-1/4 vs VHC-2/3 independientemente de la duración del tratamiento

**Conclusiones.** La mitad de los pacientes VIH/VHC tratados con peginterferón alfa-2a 180 mg/semana y RBV 1000-1,200 mg/día alcanzan RVS. El porcentaje de RVS fue significativamente superior (el doble) en los pacientes con genotipos 2/3 que en los pacientes con genotipos 1/4. La utilización de dosis altas de ribavirina, más que prolongar el tiempo de tratamiento, parece ser la causa de los porcentajes de RVS obtenidos en este estudio.

### INFLUENCIA DE LA PRESIÓN INTRABDOMINAL Y PORTAL EN EL DESARROLLO DE LA DISFUNCIÓN CIRCULATORIA POSTPARACENTESIS

A. Monescillo, A. Cruz, L. Ruiz del Arbol<sup>1</sup>, F. Martínez-Lagares<sup>2</sup>, E. Jiménez, E. García, C. Guevara, E. Buceta<sup>2</sup>, M. Peñate, J.M. Marrero, M. Jorge, A. Sierra, A. Castellot, V. Mallo de Molina, P. Saiz, M. Morales<sup>3</sup> y W. Jiménez<sup>3</sup>  
Servicio Aparato Digestivo-Hospital Insular de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria. <sup>1</sup>Servicio de Gastroenterología-Hospital Ramón y Cajal. Madrid. <sup>2</sup>Servicio de Radiología Vasculor Intencionista-Hospital Insular de Gran Canaria. Las Palmas de GC. <sup>3</sup>Laboratorio de Hormonas-Hospital Clínico. Barcelona.

**Introducción.** La disfunción circulatoria postparacentesis (DCPP) acorta la supervivencia de los pacientes con cirrosis y ascitis. La utilización de albúmina cuando se extraen cantidades  $\geq 5$  litros se recomienda para su prevención. Este criterio presenta baja exactitud obligando a un sobreuso de la albúmina. Por otra parte, no se ha investigado suficientemente la influencia de la hipertensión portal en el desarrollo de la DCPP.

**Objetivos.** 1) Conocer si la presión intrabdominal (PIA) y la hipertensión portal influyen en la aparición de la DCPP. 2) Evaluar si la vasodilatación arterial postparacentesis se relaciona con el desarrollo de la DCPP.

**Pacientes y métodos.** 43 pacientes cirróticos con ascitis a tensión tratados con paracentesis total fueron incluidos consecutivamente.

Durante 5 días recibieron dieta sin sal y no diuréticos. Al 6º día de la inclusión, previo a paracentesis total, se extrajo sangre para bioquímica hepática, renal y determinación de actividad de renina plasmática (ARP) y se realizó estudio hemodinámico hepático ( $n = 43$ ) y sistémico basal y a la hora postparacentesis ( $n = 21$ ). La medición de la PIA se realizó mediante sistema de columna de agua calibrada antes y al finalizar la paracentesis. La poligelina (8 g/l) fue el expansor plasmático utilizado. Al 6º día postparacentesis se evaluó la función renal, hepática y la ARP. Se define DCPD como la elevación de la ARP mayor de un 50% sobre el valor basal siempre que el valor final sea superior a 4 ng/ml\*h.

**Resultados.** 14 pacientes (33%) presentaron DCPD. Los pacientes que desarrollaron DCPD presentaron mayor creatinina basal ( $1,16 \pm 0,39$  vs  $0,92 \pm 0,32$  mg/dl) sin diferencias en el resto de la función renal y hepática, ni en la cantidad de LA ( $9,0 \pm 3,3$  vs  $7,2 \pm 2,2$ ;  $p = 0,08$ ). Sin embargo, la PIA, y el gradiente de presión venosa hepática fueron mayores en los pacientes con DCPD ( $22,7 \pm 4,6$  cm H<sub>2</sub>O vs  $17,2 \pm 4,7$  cm H<sub>2</sub>O;  $21,1 \pm 4,0$  mmHg vs  $17,2 \pm 3,9$  mmHg,  $p < 0,01$  respectivamente). La DCPD se acompañó de mayor descenso de las resistencias vasculares sistémicas postparacentesis y mayor descompresión intrabdominal postparacentesis ( $-23 \pm 13\%$  vs  $-11 \pm 9\%$ ,  $p = 0,03$ ;  $14,7 \pm 5,3$  vs  $9,6 \pm 3,8$  cm H<sub>2</sub>O,  $p = 0,001$ , respectivamente). El valor de corte de la PIA en la curva ROC (AUC: 0,819) para identificar DCPD fue 20 cm de H<sub>2</sub>O. El uso de albúmina estaría recomendado en 37 pacientes (84%) con extracción de LA  $\geq 5$  litros vs 18 pacientes (42%) con PIA  $\geq 20$  cm. Desarrollaron DCPD, 61% de pacientes con PIA  $\geq 20$  cm de H<sub>2</sub>O frente al 35% de pacientes con extracción  $\geq 5$  litros de LA.

**Conclusiones.** Los pacientes que desarrollan DCPD presentan ascitis con mayor PIA, más hipertensión portal y una mayor vasodilatación arterial inmediatamente postparacentesis. La PIA es un criterio más exacto que el volumen de ascitis extraído para predecir la DCPD y su uso implica un ahorro en la indicación de albúmina postparacentesis.

#### LA RADIOEMBOLIZACIÓN HEPÁTICA MEDIANTE MICROESFERAS DE RESINA CON YTRIO-90 TIENE EFECTO ANTITUMORAL LOCAL EN EL HEPATOCARCINOMA AVANZADO

B. Sangro<sup>1</sup>, J.I. Bilbao<sup>2</sup>, A. Martínez-Cuesta<sup>2</sup>, J. Rodríguez<sup>3</sup>, M. Valero<sup>4</sup>, J. Arbizu<sup>4</sup>, A. Benito<sup>2</sup>, M. Iñarrairaegui<sup>1</sup>, F. Alegre<sup>1</sup>, J.I. Herrero<sup>1</sup>, J. Quiroga<sup>1</sup> y J. Prieto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medicina Interna, <sup>2</sup>Radiología, <sup>3</sup>Oncología Médica y <sup>4</sup>Medicina Nuclear. Clínica Universitaria. Pamplona.

**Justificación.** La radioembolización (RE) es un tratamiento prometedor para tumores hepáticos, pero se sabe poco sobre su efecto antitumoral real en el hepatocarcinoma (HCC) y sobre su seguridad en pacientes cirróticos.

**Métodos.** Se han analizado el efecto antitumoral y la toxicidad de la RE en todos los pacientes tratados en nuestra Unidad en el período de 09/2003 a 09/2006. El criterio básico de inclusión ha sido presentar un HCC avanzado con función hepática conservada. Tras la RE, los pacientes han sido seguidos sin tratamiento hasta la progresión o el éxito.

**Resultados.** De los 48 pacientes evaluados, en 10 se contraindicó la RE por shunt hepatopulmonar excesivo (3 pacientes) o previsible incapacidad para que las microesferas accedieran al tumor (6 pacientes). De los 38 restantes, 5 pacientes tienen un seguimiento breve lo que deja 33 pacientes evaluables con un seguimiento medio de 10,5 meses. Los pacientes con tumores voluminosos fueron mayoría (mediana de volumen tumoral 360 mL), el 72% eran cirróticos y el 21% tenían trombosis portal. La mediana de actividad de SIR-Spheres administrada fue de 2.20 GBq. La respuesta tumoral no pudo medirse por criterios RECIST en 3 pacientes con tumores difusos. De los restantes 30 pacientes, en todos menos uno se observó una disminución del tamaño de las lesiones target de intensidad variable. Considerando sólo las lesiones target, las tasas de control de enfermedad y de respuesta

fueron del 100% y del 21%, respectivamente. Sin embargo, 13 pacientes desarrollaron nuevos nódulos tumorales en el hígado 1 a 7 meses después de la RE, de forma que las tasas globales de control de enfermedad y de respuesta fueron del 78% y el 21%, respectivamente. Sólo se observó progresión en las lesiones target en un paciente. Se observó daño hepático inducido por RE (que aparece en forma de ascitis e hiperbilirrubinemia 1 a 2 meses después del tratamiento) de carácter grave en 2 de 8 pacientes tratados en un primer período. La introducción de ciertos cambios en los criterios de selección de los pacientes y en el cálculo de la actividad a administrar se tradujo en un descenso estadísticamente significativo en la incidencia de toxicidad hepática. Y ninguno de los pacientes tratados en los últimos 18 meses ha presentado daño hepático grave.

**Conclusión.** La RE mediante microesferas de resina con ytrio-90 produce un efecto antitumoral notable que permite controlar el crecimiento local de las lesiones tratadas. La posibilidad de producir insuficiencia hepática debe traducirse en un cálculo de dosis preciso y conservador en la población de pacientes cirróticos.

#### RESPUESTA VIROLÓGICA INICIAL E INCIDENCIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B TRATADOS CON ADEFOVIR

A. Gallego<sup>1</sup>, J. Sheldon<sup>2</sup>, N. Margall<sup>1</sup>, M. Romero<sup>2</sup>, P. Hornillos<sup>1</sup>, V. Soriano<sup>2</sup>, J. García-Samaniego<sup>2</sup> y J. Enríquez<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Patología Digestiva, Hospital Sta. Creu i St. Pau. <sup>2</sup>Patología Digestiva, Hospital Carlos III, Madrid.

**Introducción.** Los factores asociados a la incidencia de mutaciones de resistencia a adefovir (ADF) en el tratamiento de la hepatitis crónica B no están bien definidos.

**Objetivo.** Evaluar la respuesta virológica inicial (RVI) y la probabilidad de desarrollar mutaciones de resistencia a ADF.

**Método.** Se analizaron los pacientes con hepatitis crónica B tratados con ADF durante al menos 12 meses (duración media:  $23,21 \pm 7,67$  meses). Se cuantificó el DNA-VHB cada 3 meses mediante RT-PCR (COBAS TaqMan HBV test; Roche Diagnostics). El genotipo viral se determinó mediante Inno-LiPA (Innogenetics). La presencia de resistencias a ADF se investigó por análisis genotípico mediante amplificación de la transcriptasa reversa del VHB. La RVI se definió por la reducción del DNA-VHB  $\geq 4 \log_{10}$  UI/ml en el mes 6 de tratamiento. **RESULTADOS.** Se estudiaron 42 pacientes (32 varones; edad media:  $48,14 \pm 10,39$  años). Veintidós (50%) recibieron ADF como primer tratamiento mientras que los otros 21 habían recibido previamente lamivudina (LAM) (13 de ellos desarrollaron resistencia a LAM). Treinta y siete (88%) eran HBe-Ag negativo. El genotipo se determinó en 33/42 pacientes: 76% D, 18% A y 6% F. Veinte pacientes tenían cirrosis hepática o estadio pre-cirrosis determinados por biopsia hepática y/o criterios clínicos (biopsia hepática disponible en 31). Los niveles medios basales de DNA-VHB y ALT fueron:  $6,43 \pm 1,20 \log_{10}$  UI/ml y  $183,33 \pm 179,64$  UI/L respectivamente. La RVI se alcanzó en 15/37 pacientes (40,5%). Los pacientes con RVI tenían valores basales de ALT significativamente mayores ( $225,67 \pm 175,66$  vs  $120,45 \pm 76,35$ ;  $p = 0,043$ ). La RVI no se relacionó con el nivel basal de DNA-VHB, genotipo, grado de fibrosis, tratamiento previo con LAM o resistencia a este nucleósido. En los pacientes con RVI el DNA-VHB fue indetectable en el mes 12 en el 77% de los casos frente a 1 paciente sin RVI ( $p < 0,001$ ). En 5/42 pacientes se detectaron mutaciones resistentes a ADF durante el tratamiento: rtN236T en 4 casos (en un paciente apareció al 6º mes de tratamiento) y rtV207L en 1 caso. El significado clínico de esta última mutación no es bien conocido. La probabilidad actuarial de desarrollar mutaciones resistentes a ADF a 1 y 2 años fue 7% y 17% respectivamente.

**Conclusiones.** 1. La RVI al tratamiento con ADF se observó en el 40,5% de los pacientes y predijo la respuesta virológica al año. 2. La probabilidad actuarial de desarrollar mutaciones de resistencia fue del 7% y 17% al primer y segundo año respectivamente.

## Sesión general 6

Moderadores: María Trapero. (Madrid). Matías Ávila. (Pamplona)

### ESTUDIO MULTICÉNTRICO ALEATORIZADO Y CONTROLADO COMPARANDO EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO VS TRATAMIENTO COMBINADO FARMACOLÓGICO + LIGADURA ENDOSCÓPICA DE VARICES EN LA PREVENCIÓN DE LA RECIDIVA HEMORRÁGICA EN PACIENTES CON CIRROSIS

J.C. García-Pagan por el grupo cooperativo Español para el estudio de la hemorragia variceal

El tratamiento farmacológico con nadolol  $\pm$  5-mononitrato de isosorbida (NAD  $\pm$  5MN) o la ligadura endoscópica de varices (LEV) son alternativas recomendadas como de primera elección para prevenir la recidiva hemorrágica en pacientes con cirrosis. Dos estudios recientes sugieren que asociar NAD mejora la eficacia de la LEV en esta indicación. No se ha evaluado, no obstante, si asociar LEV mejora la eficacia del tratamiento farmacológico con NAD  $\pm$  5MN. Ello fue evaluado en el presente estudio multicéntrico aleatorizado y controlado realizado en 6 hospitales Españoles que incluyó 159 pacientes cirróticos que tras presentar un episodio de hemorragia variceal fueron aleatorizados a recibir tratamiento con NAD  $\pm$  MN (n = 79) o NAD  $\pm$  MN asociado a LEV (n = 80). La aleatorización se realizó dentro de los 7 días del episodio de hemorragia. El objetivo principal del estudio fue la recidiva hemorrágica de cualquier origen. La recidiva variceal y la mortalidad fueron objetivos secundarios. No existieron diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto edad, sexo, etiología, grado de Child o dosis de NAD o MN. El seguimiento mediano fue de 14m. No hubo diferencias significativas en la probabilidad actuarial de permanecer libre de recidiva hemorrágica (1 año; 74% en NAD  $\pm$  MN +LEV vs 67% en NAD  $\pm$  MN, NS). La probabilidad de permanecer libre de recidiva hemorrágica por varices fue significativamente mayor en el grupo NAD  $\pm$  MN +LEV (83 vs 69% NAD  $\pm$  MN, p < 0,02). No obstante, la recidiva no variceal aconteció en 10 pts, 8 en NAD  $\pm$  MN +LEV (4 Ulceras post-LEV; 3 gastropatía hipertensión portal (GHP, 1 desconocida) vs. Sólo 2 en el grupo NAD  $\pm$  MN (p = 0,1). No hubo diferencias en cuanto a la supervivencia ni en el número de pts que requirió tratamiento de rescate; 22 en el grupo NAD  $\pm$  MN (15 LEV, 6 TIPS, 1 shunt quirúrgico) vs 15 pts en NAD  $\pm$  MN +LEV (6LEV, 9 TIPS). 5 pacientes en el grupo NAD  $\pm$  MN +LEV desarrollaron complicaciones relacionadas con el tratamiento que requirieron hospitalización (hemorragias post-LEV) frente a ninguno en el grupo NAD  $\pm$  MN (p = 0,07). El grado de insuficiencia hepática fue el único factor independiente prediciendo la recidiva hemorrágica, mientras que el grupo de tratamiento fue la única variable predictiva de hemorragia de origen variceal.

**Conclusión.** En pacientes con cirrosis y hemorragia variceal, la asociación de LEV al tratamiento farmacológico no reduce de forma significativa la probabilidad de presentar recidiva hemorrágica ni la mortalidad. La asociación de LEV si que reduce las recidivas hemorrágicas por varices, pero a expensas de un mayor número de hemorragias de origen no variceal, y un mayor número de complicaciones graves que requieren hospitalización.

Estos resultados no apoyan que el tratamiento de elección para prevenir la recidiva hemorrágica deba incluir la asociación de LEV al tratamiento farmacológico con NAD  $\pm$  5MN.

### TERLIPRESINA Y ALBÚMINA VS ALBÚMINA SOLA EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON SÍNDROME HEPATORRENAL (SHR). ESTUDIO MULTICÉNTRICO, ALEATORIZADO Y COMPARATIVO

M. Martín-Llahí, M.N. Pépin, M. Guevara, A. Torre, A. Monescillo, G. Soriano, E. Fábregas, F. Díaz, F. Salmerón, J. Such, H. Andreu, R. Solá, J. Rodés, V. Arroyo, P. Ginès y el grupo de investigadores del estudio TAHRS  
*Hospital Clínic, Barcelona; Hospital Insular Gran Canaria; Hospital Sant Pau, Barcelona; Hospital Puerta del Mar, Cádiz; Hospital General Universitario de Alicante; Hospital Universitario de Granada; Hospital Son Llàtzer, Mallorca; Hospital del Mar, Barcelona.*

Se ha demostrado que la terlipresina mejora la función renal en los pacientes con SHR, sin embargo su eficacia no ha sido evaluada adecuadamente en estudios controlados. El presente estudio incluyó 45 pacientes con cirrosis hepática y SHR que se aleatorizaron para recibir terlipresina (1-2 mg/4 h iv) y albúmina (1 g/kg seguido de 20-40 g/día) (n = 23) o albúmina sola (1 g/kg seguido de 20-40 g/día) (n = 22) durante un máximo de 15 días. Los objetivos principales del estudio fueron la mejoría de la función renal y la supervivencia a los 3 meses. La mejoría de la función renal se definió como una disminución de la creatinina sérica inicial hasta un valor inferior a 1,5 mg/dl (respuesta completa) o una disminución superior al 50% en relación con el valor basal antes del tratamiento (respuesta parcial). Ambos grupos de pacientes fueron similares respecto a las características basales. La mejoría de función renal ocurrió en 9 pacientes (39%) (respuesta completa en 8) en el grupo de terlipresina y albúmina en comparación con sólo 2 pacientes (9%) del grupo de albúmina (respuesta completa en uno) (p < 0,05). Los factores predictivos independientes de mejoría de la función renal fueron la diuresis basal y el tratamiento con terlipresina y albúmina. La supervivencia a los 3 meses no fue estadísticamente significativa entre los dos grupos (terlipresina y albúmina: 26% vs albúmina 18%; p = ns). No obstante, la mejoría de la función renal se asoció a una supervivencia más prolongada (supervivencia mediana 70 días vs 14 días en pacientes con y sin mejoría de la función renal, respectivamente; p < 0,05). No hubo diferencias significativas entre los dos grupos con respecto a la frecuencia de efectos adversos. Sin embargo, 3 pacientes en el grupo de terlipresina y albúmina desarrollaron signos de isquemia intestinal y un paciente arritmia. En conclusión, estos resultados confirman que la administración de terlipresina y albúmina mejora la función renal en pacientes con cirrosis hepática y SHR, aunque el porcentaje de respuesta observado en este estudio controlado es inferior al descrito en estudios previos no controlados. La mejoría de la función renal se acompaña de un aumento de la supervivencia. Estos resul-



tados sugieren que los pacientes con SHR deberían ser tratados con terlipresina y albúmina, en especial los pacientes en lista de espera de trasplante hepático que podrían beneficiarse de un aumento de la supervivencia y de la mejoría de la función renal en el momento del trasplante.

#### COMPARACIÓN PROSPECTIVA ENTRE ELASTOGRAFÍA, APRI Y TEST DE FORNS PARA LA VALORACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA DE DISTINTAS ETIOLOGÍAS

J.C. Marín Gabriel<sup>1</sup>, J. de la Cruz Bértolo<sup>2</sup>, I. Fernández Vázquez<sup>1</sup>, A. Martín Algué<sup>1</sup>, R. Muñoz Gómez<sup>2</sup>, M. Pérez Carreras<sup>1</sup>, F. Colina Ruizdelgado<sup>3</sup> y J.A. Solís Herruzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Unidad de Epidemiología Clínica. <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

**Objetivos.** La elastografía de transición (FibroScan®, Echosens, París) permite cuantificar el grado de fibrosis hepática (FH). El objetivo de este estudio es evaluar la utilidad del FibroScan (FS) y de los marcadores bioquímicos más sencillos de aplicar en la práctica clínica para cuantificar el grado de FH.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 110 pacientes consecutivos sometidos a una biopsia hepática - BH (percutánea n = 109 o transyugular n = 1) por distintos motivos. Para estadificar el grado de fibrosis en las muestras histológicas se utilizó la clasificación de Scheuer. El estudio con FS y la extracción de muestras séricas para los análisis bioquímicos se realizaron el mismo día de la BH. La utilidad para detectar el grado de fibrosis mediante las pruebas no invasivas (FS, APRI y test de Forn) se estimó mediante el cálculo del área bajo la curva (ABC)-ROC.

**Resultados.** La distribución por sexos fue: 60,4% H y 39,6% M. La mediana de edad fue de 47 años (rango: 21 - 74). Los motivos de petición de la BH fueron: VHC (n = 68; de los cuales VIH positivos n = 22), hepatopatía grasa (n = 13), en injerto (n = 26; de los cuales VHC n = 12), VHB (n = 7) y otras (n = 16). En 38 pacientes se encontraron 2 causas de hepatopatía y 3 etiologías en 2 de los casos. La distribución por grados de fibrosis evaluada por el estudio histológico fue: F0 en 43 pacientes (39%), F1 en 43 (39%), F2 en 12 (11%), F3 en 8 (7,3%) y F4 en 4 (3,6%). La medición de la elasticidad (E) con el FS se logró obtener en 104 pacientes (93,7%) con una mediana de 5,85 kPa (rango: 2,9 - 54,3). Por grados de FH, la media y su DE fueron: 5,4 ± 2,7 para F0; 6,9 ± 4,7 para F1; 13,25 ± 13,4 para F2; 11,2 ± 4,26 para F3; y 17,9 ± 6,6 para F4. Las diferencias en los valores de E resultaron estadísticamente significativas (p < 0,05) cuando se comparó el grupo de F0 con F2 y F4 así como entre F1 con F2 y F4. Los valores obtenidos con el APRI fueron mediana: 0,53 (rango: 0,13 - 18,14). Con el test de Forn la mediana fue 5,35 (rango: -0,26 - 11,02). Las ABC-ROC para el FS, APRI y test de Forn fueron: 0,88, 0,75 y 0,64 respectivamente para F ≥ 2 (p < 0,00001); 0,87, 0,78 y 0,66 respectivamente para F ≥ 3 (p = 0,0001) y 0,94, 0,70 y 0,67 respectivamente para F4 (p = 0,0002).

**Conclusión.** El FS es un método simple para cuantificar el grado de FH independientemente de la causa de hepatopatía y cuya precisión diagnóstica es superior de manera estadísticamente significativa a la obtenida cuando se utilizan el APRI y el test de Forn como marcadores séricos de FH.

#### ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS CCR5 Y CXCR3 EN CÉLULAS CD8+ DURANTE LA INFECCIÓN POR VHC

M. Calvino<sup>1</sup>, S. Benito<sup>1</sup>, J.R. Larrubia<sup>1,2</sup>, J. Pérez de Hornedo<sup>1</sup>, A. Arias<sup>1</sup>, E. Sanz de Villalobos<sup>2</sup>, F. González Mateos<sup>2</sup>, S. García Garzón<sup>2</sup>, C. Perna<sup>3</sup>, A. Bienvenido<sup>2</sup> y T. Parra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Investigación. <sup>2</sup>S. Aparato Digestivo. <sup>3</sup>S. Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Guadalajara.

**Introducción.** Los receptores de quimioquinas CCR5 y CXCR3 juegan un papel fundamental en el reclutamiento de linfocitos T al hígado, pero su expresión puede ser modificada por el VHC como

parte de sus mecanismos de supervivencia frente al sistema inmunológico del huésped.

**Objetivos.** Analizar el comportamiento de estos receptores en células CD8 de sangre periférica y biopsia hepática, de sujetos con hepatitis crónica por virus C (HCC) de genotipo 1, basalmente y post-tratamiento con interferón pegilado y rivabirina.

**Materiales y métodos.** Se obtuvo suero, células mononucleares de sangre periférica (CMSP) e intrahepáticas (CMIH) de 30 pacientes con HCC; y suero y CMSP de 21 controles sanos (CS). Las CMSP se separaron mediante gradiente de Ficoll-Hypaque y las CMIH por digestión de un fragmento del cilindro de biopsia hepática con DNAasa y colagenasa-I. La expresión de CCR5 y CXCR3 en linfocitos de sangre e intrahepáticos se evaluó por Citometría de Flujo y la concentración de las quimioquinas en suero por técnicas de ELISA. Los datos basales de los pacientes se correlacionaron con los de los CS y con el grado de inflamación hepática evaluado mediante el índice de Scheuer. Los datos del estudio longitudinal se correlacionaron con la respuesta virológica al tratamiento.

**Resultados.** 1. Se observó un "secuestro" intrahepático de CD8 positivos para CCR5 y CXCR3 que se correlacionaba con el grado de inflamación:

	Sangre periférica	Hígado	p valor	Actividad portoperiportal	Actividad lobulillar
% Células CD8/CCR5 <sup>high</sup>	31,46 (IQR: 31,87)	76,79 (IQR: 18,19)	< 0,01	r = 0,516; p < 0,005	r = 0,544; p < 0,01
% Células CD8/CXCR3 <sup>high</sup>	61,03 (IQR: 36,73)	73,30 (IQR: 15,05)	< 0,05	r = 0,764; p < 0,01	r = 0,568; p < 0,005

2. El tratamiento antiviral restablecía la expresión de los receptores CCR5 y CXCR3; y se relacionaba de manera inversa con las concentraciones séricas encontradas para CCL3 y CXCL10.

n = 11	Basal	Post-tratamiento	p valor	n = 11	Basal	Post-tratamiento	p valor
% Células CD8/CCR5 <sup>high</sup>	13,70 (IQR: 6)	28,00 (IQR: 25)	< 0,05	CCL3 (pg/mL)	8,24 (IQR: 8,02)	6,70 (IQR: 4,51)	< 0,05
% Células CD8/CXCR3 <sup>high</sup>	50,00 (IQR: 24,25)	58,00 (IQR: 13,25)	< 0,01	CXCL10 (pg/mL)	378,77 (IQR: 153,38)	298,52 (IQR: 154,45)	< 0,05

Una expresión elevada y sostenida mayor del 14% de CXCR3 durante el tratamiento predecía una respuesta virológica adecuada (VPP = 100%, VPN = 77,8%).

**Conclusiones.** La expresión de CCR5 y CXCR3 favorece el reclutamiento intrahepático de células CD8+ y la inflamación hepática en la HCC; el VHC interfiere disminuyendo la expresión de estos receptores probablemente como una estrategia de supervivencia. El tratamiento antiviral restablece la expresión de CCR5 y CXCR3, lo que está asociado a la disminución de la carga viral, al control de la infección y a la disminución de sus ligandos CCL3 y CXCL10.

#### ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN IN VITRO DE CÉLULAS MONONUCLEARES PROCEDENTES DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL HUMANO EN CÉLULAS CON CARACTERÍSTICAS DE HEPATOCITOS

M.J. Sáez Lara<sup>1</sup>, M.V. García Mediavilla<sup>2</sup>, S. Sánchez Campos<sup>2</sup>, F. Abadía Molina<sup>3</sup>, A.I. Álvarez Mercado<sup>1</sup>, M. Cabello Donaire<sup>1</sup>, A. Gil Hernández<sup>2</sup>, J. González Gallego<sup>2</sup> y L. Fontana Gallego<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada; <sup>2</sup>Instituto de Biomedicina, Universidad de León; <sup>3</sup>Dpto. Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada.

**Introducción.** Las células progenitoras procedentes de cordón umbilical son células hematopoyéticas pluripotentes que pueden diferenciarse en diversos tipos celulares. Si bien existe información respecto al poder diferenciador y reparador de las mismas, su empleo en patologías hepáticas ha sido objeto de escasos estudios.

**Objetivo.** El objetivo del presente trabajo consistió en estudiar la posible diferenciación *in vitro* de células mononucleares procedentes de sangre de cordón umbilical humano en células que presenten características específicas de hepatocitos, como un paso preliminar para llevar a cabo un estudio en el campo de la medicina regenerativa hepática.

**Metodología.** El estudio comenzó con el aislamiento de la fracción de células mononucleares procedentes de sangre de cordón umbilical humano, que fueron cultivadas posteriormente en placas recubiertas de gelatina e incubadas durante 21 días en presencia de factores de crecimiento y diferenciación (HGF, LIF, FGF-2, SCF, 10 ng/ml, y FGF-1, 20 ng/ml). Tras períodos de incubación de 7, 14 y 21 días, se aisló ARN total de las células cultivadas así como de células frescas (sin cultivar) con el fin de determinar, mediante RT-PCR cuantitativa a tiempo real, marcadores específicos de hepatocitos como son citoqueratina 18 (CK-18),  $\alpha$ -fetoproteína (AFP), glutamina sintetasa (GS) y albúmina (ALB). Asimismo, se llevaron a cabo estudios de inmunofluorescencia para la detección de dichas proteínas. Como control positivo se utilizó hígado de pacientes infectados con el virus de la hepatitis C.

**Resultados.** Tras 21 días de incubación con los factores de crecimiento y diferenciación, las células mononucleares procedentes de cordón umbilical humano mostraron expresión génica (concentración de ARNm) de AFP, CK-18, GS y ALB, siendo todos los marcadores detectables desde el día 7 post-incubación. Dichos resultados fueron corroborados mediante la detección de las proteínas por inmunofluorescencia. Las muestras utilizadas como control positivo mostraron expresión génica de los cuatro marcadores.

**Conclusión.** Los resultados sugieren que la sangre de cordón umbilical no contiene cantidades detectables de células productoras de albúmina. El cultivo *in vitro* con factores de crecimiento y diferenciación específicos durante 21 días permite la diferenciación de las células mononucleares procedentes de sangre de cordón umbilical en células que expresan marcadores de hepatocitos, lo que posibilitaría su utilización como terapia en diversas patologías hepáticas. (Financiado por la Federación de Cajas de Ahorro de Castilla y León y proyecto PI050520 del Fondo de Investigación Sanitaria).

#### POTENCIAL EFECTO BENEFICIOSO DEL TRATAMIENTO CON MELATONINA, SILIMARINA Y ACIDO URSODESOXICÓLICO CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO EN EL HÍGADO FETAL PROVOCADO POR LA COLESTASIS GESTACIONAL

M.J. Pérez<sup>1</sup>, B. Castaño<sup>1</sup>, M.A. Serrano<sup>2</sup>, J.M. González-Buitrago<sup>1</sup>, F. González-San Martín<sup>1</sup> y J.J.G. Marín<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Hospital Universitario de Salamanca. <sup>2</sup>Universidad de Salamanca. Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos.

**Antecedentes.** La colestasis gestacional se acompaña de estrés oxidativo y activación de la apoptosis no solo en los tejidos maternos sino también, y con mayor intensidad, en el hígado fetal y la placenta, lo que puede tener repercusiones en la función hepática postnatal o incluso poner en peligro la gestación. El objetivo de este trabajo fue analizar en hígado materno, hígado fetal y placenta de rata la respuesta de varios sistemas implicados en la defensa antioxidante frente a la hipercolanemia y la hiperbilirrubinemia asociadas a la colestasis de la madre, así como el potencial efecto protector del tratamiento con melatonina, silimarina y ácido ursodesoxicólico (AUDC).

**Métodos.** Como modelo *in vivo* se utilizó la obstrucción total del conducto biliar común de ratas desde el día 14 al 21 de su gestación. A algunos grupos de animales, a partir del día 14 de la gestación, se les administró diariamente por vía intragástrica una dosis de melatonina, silimarina (5 mg/100 g de peso corporal) o AUDC (60  $\mu$ g/100 g de peso corporal). Como modelo *in vitro* se utilizaron líneas celulares de hepatoblastoma humano (HepG2) y de trofoblasto humano (JAR), que se cultivaron durante 72 horas en presencia de ácido taurocólico (TCA, 50  $\mu$ M), AUDC (50  $\mu$ M) o bilirrubina (5 y 50  $\mu$ M).

**Resultados.** Tanto la melatonina como la silimarina y el AUDC fueron capaces de prevenir, en gran medida, el estrés oxidativo (marcada elevación de la peroxidación lipídica y alteraciones en los niveles de glutatión), así como la activación de la apoptosis (elevación de la actividad caspasa-3 y de la expresión de la proteína proapoptótica Bax- $\alpha$ ) inducidos por la colestasis gestacional en el hígado materno, el hígado fetal y la placenta de rata. Además, la colestasis materna estimuló la expresión en estos órganos del ARNm de varias proteínas implicadas en la defensa antioxidante como la biliverdina-IX $\alpha$  reductasa y los transportadores de vitamina C, SVCT1 y SVCT2. El tratamiento con melatonina o AUDC, pero no con silimarina, indujo un aumento adicional en los niveles de ARNm de dichas proteínas. En cultivos de células HepG2 o JAR, la incubación con bilirrubina aumentó los niveles de ARNm de SVCT1 y SVCT2, y solo en células HepG2 aumentó los de la biliverdina-IX $\alpha$  reductasa. El AUDC y el TCA indujeron la expresión de SVCT2 y biliverdina-IX $\alpha$  reductasa en ambos tipos celulares y la de SVCT1 solo en células JAR.

**Conclusiones.** Estos resultados sugieren que tanto la acumulación de ácidos biliares como la acumulación de bilirrubina asociadas a la colestasis materna, estimulan una respuesta endógena de sistemas de protección antioxidante en el hígado materno, el hígado fetal y la placenta. La melatonina, la silimarina y el AUDC protegen frente al estrés oxidativo inducido en estas condiciones en el *conceptus* de rata, aunque sólo el tratamiento con melatonina o AUDC, es capaz de inducir una potenciación adicional de estos sistemas antioxidantes endógenos.

#### HEPATOTOXICIDAD POR PRODUCTOS DE HERBORISTERÍA: ANÁLISIS DE LOS CASOS INCLUIDOS EN EL REGISTRO ESPAÑOL

R.J. Andrade<sup>1</sup>, Y. Borraz<sup>1</sup>, M. García Cortés<sup>1</sup>, B. García-Muñoz<sup>1</sup>, G. Peláez<sup>2</sup>, J. Salmerón<sup>3</sup>, M. Diago<sup>4</sup>, M.C. Martínez-Sierra<sup>5</sup>, J.M. Navarro<sup>6</sup>, R. Planas<sup>7</sup>, M.J. Soria<sup>5</sup>, M. Jiménez-Sáenz<sup>8</sup>, M. Bruguera<sup>9</sup> y M.I. Lucena<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga. <sup>2</sup>Hospital Torrecárdenas, Almería. <sup>3</sup>Hospital Universitario San Cecilio, Granada. <sup>4</sup>Hospital General, Valencia. <sup>5</sup>Hospital Puerta del Mar, Cádiz. <sup>6</sup>Hospital Costa del Sol, Marbella. <sup>7</sup>Hospital Germans Trias y Pujol, Badalona. <sup>8</sup>Hospital Universitario Virgen de la Macarena, Sevilla. <sup>9</sup>Hospital Clinic, Barcelona.

El consumo de hierbas medicinales está experimentando un incremento notable debido al auge de la medicina alternativa, pero muchos de estos compuestos han demostrado ser hepatotóxicos.

**Objetivos.** Analizar las características clínico-epidemiológicas de la hepatotoxicidad atribuida a productos de herboristería en España.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron en el análisis todos los casos relacionados con consumo de hierbas remitidos al Registro Español de Hepatotoxicidad. Se evaluó el tipo de lesión producida, la gravedad potencial y la evolución clínica.

**Resultados.** Entre 1995 y 2006 un total de 13 casos de 571 (2%) de hepatotoxicidad incluidos en el Registro correspondían a productos de herboristería. El remedio herbal responsable del mayor número de casos fue *Camellia sinensis* (3, 23%), seguido de *Rhamnus purshianus* (Cáscara Sagrada) (2, 15%), siendo el resto de hierbas representadas con un caso cada una [*Aesculus hippocastanum*, *Cauterea latiflora* (Copaltra), Chitosan, *Cassia angustifolia*, Valeriana, Kava-Kava, Fitosoja, Biosoja]. Cuatro pacientes (31%) eran varones y la edad media fue 42,2 años. La presentación fue con ictericia en 9 casos (69%), y con alteraciones de laboratorio en 4 (31%). El tipo de lesión predominante fue hepatocelular (12, 92%), y 4 casos (31%) presentaron manifestaciones de hipersensibilidad. Ningún paciente falleció, y la recuperación completa fue la regla en los casos en que hubo seguimiento prolongado.

**Conclusiones.** La hepatotoxicidad por productos de herboristería no es excepcional, afectando principalmente al sexo femenino y presentándose mayoritariamente con lesión citolítica e ictericia. *Camellia sinensis* y *Rhamnus purshianus* son los productos de herboristería más frecuentemente responsables de hepatotoxicidad en España.