

**PRUEBA DEL ALIENTO DE HIDRÓGENO CON HARINA DE ARROZ EN EL RECONOCIMIENTO DE LA INSUFICIENCIA PANCREÁTICA**

F. Casellas Jordà, L. Guarner Aguilar, M. Antolín y J.R. Malagelada Benaprés

*Servicio de Digestivo Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.*

Las pruebas del aliento de hidrógeno (H<sub>2</sub>) se utilizan en el diagnóstico de la malabsorción intestinal de carbohidratos. La insuficiencia pancreática exocrina grave causa una reducción significativa en la absorción de carbohidratos complejos. Por ello se ha sugerido que la prueba de aliento de H<sub>2</sub> utilizando almidón como sustrato podría ser capaz de reconocer un grado avanzado de insuficiencia pancreática al aparecer una excesiva producción de H<sub>2</sub> proveniente de la fermentación en el colon del sustrato malabsorbido. Se ha comparado la eficacia de la prueba de aliento de H<sub>2</sub> utilizando dosis elevadas de harina de arroz (100 g) como sustrato con las pruebas del PABA y pancreolauril, y con los niveles fecales de grasa o quimotripsina, con resultados contradictorios. Sin embargo, no se ha comparado la prueba del aliento de H<sub>2</sub> con medidas directas de la función pancreática.

**Objetivo:** Determinar si la prueba de aliento de H<sub>2</sub> con dosis bajas de harina de arroz se relaciona con la insuficiencia pancreática medida con una prueba de función directa.

**Método:** Se han estudiado pacientes con insuficiencia pancreática diagnosticada y cuantificada mediante perfusión duodenal y medida de la producción de tripsina y lipasa tras estímulo EV con ceruleína, a los que se realizó la prueba del aliento de H<sub>2</sub> administrando por vía oral 30 g. de harina de arroz en 250 ml de agua y recogiendo muestras del aire exhalado alveolar cada 30 min durante 5 horas. La concentración de H<sub>2</sub> se midió mediante cromatógrafo de gases Quintron, expresándose los resultados de la excreción basal de H<sub>2</sub> y el incremento máximo como medianas (percentiles 25-75).

**Resultados:** Se han incluido 10 pacientes (8 hombres y 2 mujeres, con una mediana de edad de 51 años) con insuficiencia pancreática moderada o grave debida a pancreatitis crónica, pancreatectomía total o fibrosis quística. El débito intraduodenal de lipasa y tripsina tras el estímulo con ceruleína fue anormalmente baja en todos los pacientes (1,7 [0,5-4,5] y 0,8 [0,1-11,3] KU/h respectivamente). La excreción basal de H<sub>2</sub> fue de 9 (7-17) ppm y el incremento máximo sobre la basal de 4 (1-6) ppm. No se observó una adecuada correlación entre la producción de H<sub>2</sub> y los niveles intraduodenales de lipasa o tripsina, tanto basales como estimulados ( $r < 0,4$ ). Se detectó incremento en la excreción de H<sub>2</sub> en 5 pacientes: de 27 ppm en un caso asociado a sobrecrecimiento bacteriano (prueba del aliento con glucosa patológica), de 10 ppm en un caso y de 6 ppm en otros 3.

**Conclusión:** La insuficiencia pancreática causa aumento en la excreción de H<sub>2</sub> tras la ingesta de dosis bajas de harina de arroz pero que tiene un dudoso valor diagnóstico por la influencia de factores extrapancreáticos como puede ser el sobrecrecimiento bacteriano.

**TRATAMIENTO PRECOZ CON INTERLEUKINA-10 (IL-10) EN LA PANCREATITIS AGUDA GRAVE**

C. Abadía de Barbarà Marin\*, A. Villoria\*, X. Molero\*, A. Álvarez\*\*, M. Antolín\*, L. Guarner\* y J.R. Malagelada\*

*\*Servicio de Aparato Digestivo Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, \*\*Servicio de Radiología Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.*

**Introducción:** En la pancreatitis aguda grave se liberan citoquinas proinflamatorias como la IL-6, IL-1 y el TNF. Sus niveles plasmáticos se correlacionan con la severidad de la enfermedad y con la aparición de fallo multiorgánico. En cambio, la IL-10 parece que actúa disminuyendo los efectos de las citoquinas proinflamatorias. En humanos, la concentración de IL-10 es mayor en la pancreatitis leve que en las formas graves de la enfermedad. En la pancreatitis experimental tanto la administración profiláctica como la terapéutica de IL-10 disminuyen la severidad de la enfermedad. Estos datos

sugieren que la administración de IL-10 podría tener efectos beneficiosos en la pancreatitis aguda en humanos.

**Objetivo:** Determinar los efectos de la administración precoz de IL-10 en la evolución de la pancreatitis aguda grave en humanos.

**Métodos:** Estudio piloto, prospectivo y doble ciego incluyendo 15 pacientes con pancreatitis aguda grave (estadío C, D o E de Balthazar). Los pacientes se incluían en las primeras 36 horas desde el inicio de los síntomas y eran randomizados en dos grupos para recibir infusión de IL-10 (8 micrg/Kg/día n = 8) o bien placebo (n = 7) durante 7 días. Se cuantificó la morbilidad mediante la puntuación de fallo orgánico (Bernard et al. 1995) y se determinaron los niveles plasmáticos de IL-6 y PCR (proteína C reactiva) al ingreso y cada 2 días. También se realizó un TAC abdominal semanal a cada paciente durante su hospitalización y antes del alta.

**Resultados:** No se apreciaron diferencias significativas entre el grupo de pacientes tratados con IL-10 y el grupo placebo en: días de estancia hospitalaria (23+13 vs 18+4 días), puntuación del TAC abdominal así como del fallo multiorgánico y complicaciones locales. Desarrollaron fallo orgánico 4/8 (50%) de los pacientes del grupo IL-10 y 3/7 (43%) del grupo placebo. En el momento de la inclusión al estudio 3/15 (20%) de los pacientes ya presentaban fallo orgánico y 4/15 (27%) desarrollaron nuevo fallo orgánico durante su evolución. No hubo diferencias significativas entre el grupo IL-10 y el grupo placebo en la PCR (3525+862 vs 2265+370 mg/dl respectivamente) o de IL-6 (8021+2559 vs 9741+2152 pg/ml respectivamente) calculado mediante el área bajo la curva en los primeros 11 días. Un paciente requirió intervención quirúrgica, y posteriormente falleció, en el grupo de IL-10.

**Conclusión:** el tratamiento precoz con IL-10 no modifica la evolución de la pancreatitis aguda grave.

## Patología inflamatoria gastrointestinal

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADAS A LAS LESIONES DE LA MUCOSA INTESTINAL EN MUESTRAS FRESCAS DE INTESTINO DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CROHN**

X. Fuentes García\*, M. Martínez\*, X. Aldeguer Manté\*\* y F. González-Huix Lladó\*\*

*\*Laboratori de Microbiologia Molecular Universitat de Girona. Girona, \*\*Digestiu Hospital Universitari Dr. Josep Trueta. Girona.*

La posible etiología bacteriana de la enfermedad de Crohn (EC) ha sido explorada. Hasta ahora, la mayoría de trabajos bacteriológicos realizados han utilizado aproximaciones clásicas basadas en el aislamiento y cultivo de cepas procedentes de material fecal.

**Objetivo:** Detectar aquellas bacterias que se encuentren asociadas a las lesiones ulcerosas típicas de la mucosa intestinal de pacientes con EC a través del análisis molecular de las comunidades bacterianas presentes en muestras frescas intestinales obtenidas durante la colonoscopia.

**Pacientes y métodos:** Se han estudiado 15 muestras (9 del colon, 5 de ileon y 1 de recto), 7 son de mucosa normal y 8 de afectada. Total de 7 enfermos, 4 hombres y 3 mujeres, de 26,8 ± 9,8 años, (entre 15 y 44 años), con brote de EC (4 leves y 3 moderados), más una muestra de un paciente sano. Se ha separado la microflora circulante de aquella que se encuentra asociada al tejido intestinal con la disgregación mecánica de las bacterias no adheridas a la mucosa. Para su análisis, se han comparado las impresiones moleculares en un gel de poliacrilamida desnaturizante (DGGE) a partir de un fragmento del gen 16S rDNA por PCR y se han analizado las secuencias claramente asociadas a tejidos lesionados y a las áreas no afectadas.

**Resultados:** En 5 de los 7 pacientes con EC analizados, los patrones de bandas de tejido afectado y no afectado eran prácticamente idénticos, aun cuando cada paciente mostraba su propio patrón. El análisis de la secuencia de dos bandas presentes sólo en las muestras de tejido infectado ha revelado en una de ellas la presencia de una bacteria con una secuencia prácticamente idéntica (similitud > 99%) a una cepa bacteriana aislada de heces de un enfermo con EC en Francia, mientras en la otra banda existe una alta identidad (> 99,9%) con g -proteobacterias (*Shigella*).

**Conclusión:** El patrón de impresiones moleculares bacterianas constituyen un carácter único para cada paciente. En consecuencia es recomendable determinar este patrón para cada paciente para detectar anomalías en la relación huésped-bacteria y para la monitorización del curso de la enfermedad.

#### ANTICUERPOS ANTI-PROTROMBINA Y COMPLICACIONES TROMBÓTICAS EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

M. Sans<sup>a</sup>, D. Tassies<sup>b</sup>, S. Saibeni<sup>c</sup>, S. Danese<sup>d</sup>, J.C. Reverter<sup>b</sup>, J.M. Piqué<sup>a</sup>, M. Vecchi<sup>c</sup> y J. Panés<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Gastroenterología Hospital Clínic. Barcelona, <sup>b</sup>Servicio de Hemostasia Hospital Clínic. Barcelona, <sup>c</sup>Departamento de Medicina Interna Hospital IRCCS Maggiore. Milán, <sup>d</sup>Division of Gastroenterology Case Western Reserve University. Cleveland, Ohio.

**Introducción:** En la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) se produce un estado de hipercoagulabilidad y un riesgo aumentado de complicaciones trombóticas. Los factores responsables de los mismos son solo parcialmente conocidos. Se ha descrito la asociación de los anticuerpos anti-protrombina (AAP) al desarrollo de trombosis en diversas enfermedades autoinmunes. No obstante, no hay estudios que evalúen su participación en las complicaciones trombóticas en los pacientes con EII.

**Objetivo:** 1) Analizar la prevalencia de AAP en una serie de pacientes con EII y complicaciones trombóticas. 2) Estudiar en esta serie la relación existente entre el desarrollo y tipo de complicaciones trombóticas, la presencia de AAP y otras características clínicas.

**Métodos:** Se trata de un estudio retrospectivo caso-control. Entre los pacientes con EII atendidos en dos centros hospitalarios se identificaron 33 pacientes con historia de complicaciones trombóticas (casos). 17 de ellos tenían una enfermedad de Crohn (EC), 15 una colitis ulcerosa (CU) y 1 una colitis indeterminada (CI). Para cada uno de ellos se incluyó en el estudio 1 control (paciente afecto de EII sin complicaciones trombóticas), apareado por edad, sexo, y tipo de enfermedad (EC, CU o CI). Se revisaron las historias clínicas de los pacientes y se determinó la presencia y título de anticuerpos anti-protrombina de tipo IgG e IgM en muestras de plasma.

**Resultados:** Los 33 casos habían presentado un total de 35 complicaciones trombóticas, de las cuales 25 eran venosas (17 trombosis venosa profunda, 2 trombosis portal, 2 trombosis axilar, 1 trombosis yugular, 2 Budd-Chiari) y 10 arteriales (5 infarto de miocardio, 3 trombosis cerebral, 2 trombosis retiniana). Los AAP fueron positivos en 3 casos (9,1%). En 1 caso los AAP fueron de tipo IgG, en otro de tipo IgM y en el tercero de tipo IgG e IgM. Los 3 pacientes tenían una CU y habían presentado una trombosis venosa profunda. Su edad media fue de 62 años y la del resto de casos AAP (-) 49 años (P = NS). No se encontró asociación entre la positividad de AAP y otras variables clínicas. Se hallaron anticuerpos anti-protrombina en 4 controles (12,1%, p = NS vs. casos). Uno de tipo IgG, otro de tipo IgM y los 2 restantes de tipo IgG e IgM. La prevalencia de anticuerpos anti-protrombina hallada en los pacientes con EII y trombosis es algo superior a la descrita en la población sana de nuestro medio (5%), pero muy inferior a la encontrada en pacientes afectados de enfermedades autoinmunes y complicaciones trombóticas (40-45%).

**Conclusiones:** En los pacientes afectados de EII la existencia de anticuerpos anti-protrombina no se asocia a un mayor riesgo de padecer complicaciones trombóticas.

#### CARACTERIZACIÓN DE LAS MUTACIONES DEL GEN CARD15/NOD2 EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CROHN Y SU IMPLICACIÓN CLÍNICA

M. Álvarez Lobos\*, J. Arostegui\*\*, M. Sans\*, D. Tassies\*\*\*, J.C. Reverter\*\*\*, J.M. Piqué\*, J. Yagüe\*\* y J. Panés\*

\*Gastroenterología H. Clínic de Barcelona. Barcelona, \*\*Laboratorio Inmunología H. Clínic de Barcelona. Barcelona, \*\*\*Hemostasia H. Clínic de Barcelona. Barcelona.

**Introducción:** Tres mutaciones en el gen CARD15/Nod2 (R702W, G908R, 1007insC) pueden conferir susceptibilidad para la Enfermedad de Crohn (EC). Estas mutaciones se han correlacionado con variados fenotipos. Sin embargo, tanto la frecuencia de las mutaciones como el fenotipo pueden variar en forma importante según la población, y no han sido estudiadas en el ámbito de Cataluña.

**Objetivo:** Estudiar la prevalencia de las mutaciones R702W, G908R, 1007insC del gen CARD15/Nod2 en pacientes con EC esporádicos visitados en un hospital de referencia de Cataluña y evaluar sus implicaciones fenotípicas.

**Materiales y métodos:** Se recolectaron prospectivamente bajo consentimiento las muestras de ADN de 164 pacientes con EC y 50 pacientes controles sanos. La EC se categorizó según la clasificación de Viena. La secuenciación del gen se realizó por técnica de PCR.

**Resultados:** Los pacientes con EC tenían una edad de  $36 \pm 14$  años con 89 hombres y 75 mujeres. La presencia de alguna de las mutaciones se observó en 52 pacientes (31,7%) versus 6 pacientes en el grupo control (12%) (p = 0,01). Las mutaciones R702W, G908R y 1007insC se observaron en 30 (18,3%), 7 (4,2%) y 18 (10,9%) de los pacientes con EC versus 6 (12%), 0 y 0 de los pacientes controles respectivamente. Al evaluar el fenotipo los pacientes con mutaciones presentan una significativa mayor afectación del íleon 47/52 (90,3%), que los pacientes sin mutaciones 78/112 (69%) (p = 0,007). Los pacientes con mutaciones tienen además una tendencia hacia un debut más temprano de la EC  $28,5 \pm 11$  años versus  $32,6 \pm 14$  años (p = 0,09) y hacia un mayor requerimiento de tratamiento inmunosupresor 32/52 (60%) versus 50/112 (44,6%) (p = 0,07) que aquellos sin la mutación. No se encontraron diferencias en el patrón de la enfermedad.

**Conclusión:** En Cataluña, los pacientes con EC esporádicos presentan una mayor frecuencia de mutaciones del gen CARD15/Nod2 que la población control. La frecuencia es similar a otras poblaciones europeas. La presencia de estas mutaciones se asocia a una mayor frecuencia de enfermedad ileal.

#### ESTUDIO PROSPECTIVO SOBRE LA PREVALENCIA Y EL IMPACTO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS (CMV) EN LA COLITIS ULCEROSA (CU)

R. Vega\*, E. Domènech\*, A. Hernández\*\*, I. Ojanguren\*\*\*, E. García-Planella\*, I. Bernal\*, M. Rosinach\*, J. Boix\*, E. Cabré\* y M.A. Gassull\*

\*Digestivo Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, \*\*Microbiología Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, \*\*\*Anatomía Patológica Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.

La infección colónica por CMV se ha asociado a diversas enfermedades graves del colon (CU corticorefractaria, colitis isquémica, megacolon tóxico), sin que se conozca su prevalencia y relevancia clínica.

**Objetivo:** Evaluar la prevalencia de la infección colónica por CMV en distintos grupos de pacientes con CU y en comparación con la población general, así como la influencia del CMV en la evolución clínica de la CU.

**Métodos:** estudio prospectivo observacional que incluyó diferentes grupos: 1) CU activa tributaria de tratamiento esteroideo; 2) CU activa refractaria a esteroides; 3) CU inactiva tratada con azatioprina (AZA); 4) CU inactiva tratada con 5ASA; y 5) Controles sanos. A todos se les practicó rectosigmoidoscopia y toma de biopsias para

tinción de hematoxilina-eosina, inmunohistoquímica para CMV y detección de ADN-CMV. También se determinó la antigenemia de CMV en sangre periférica. Los individuos con CU activa se trataron con prednisona 1 mg/kg/día (o dosis equivalentes) y se repitieron las determinaciones virológicas tras 7-10 días de tratamiento. Los pacientes corticorrefractarios se trataron con C y A ev, efectuándose las determinaciones al inicio y tras 7-10 días del tratamiento. Los pacientes con CU activa e infección por CMV se trataron con ganciclovir 5 mg/kg/12 h durante 14-21 días. En los casos de mala evolución clínica, se efectuaron las determinaciones en la pieza de colectomía.

**Resultados:** Se incluyeron 25 individuos en el grupo 1, 18 en el grupo 2, 21 en el grupo 3, 25 en el grupo 4 y 25 en el grupo 5. El tiempo medio de evolución de la CU fue de 82 meses, sin diferencias significativas entre los grupos. La CU fue universal en el 53% de los casos de los grupos 1 y 2, 90% del grupo 3 y 27% del grupo 4. El porcentaje de pacientes con AZA previa a la inclusión fue de 25% y 23% en los grupos 1 y 2, respectivamente. El porcentaje de serologías positivas para CMV en el momento de la inclusión fue de 65% (grupo 1), 66% (grupo 2), 75% (grupo 3), 84% (grupo 4) y 88% (grupo 5), diferencias sin significación estadística. Se detectaron 8 casos de infección colónica por CMV (prevalencia del 7,4%). El diagnóstico fue por biopsia endoscópica en 6 casos y por pieza quirúrgica en los 2 restantes. Seis casos correspondían al grupo 2 y 2 al grupo 1, lo que supone una prevalencia de infección por CMV en la CU activa corticorrefractaria del 35%. Cinco pacientes fueron tratados con ganciclovir y 3 de ellos presentaron una respuesta favorable con buena evolución clínica.

**Conclusiones:** la sobreinfección por CMV es más frecuente en la CU activa (especialmente si es refractaria a tratamiento esteroideo) que en la CU inactiva y la población sana. El tratamiento antiviral de estos pacientes se asocia a mejoría clínica en una proporción elevada de casos.

#### FACTORES PREDICTIVOS DE COMPLICACIONES POSTQUIRÚRGICAS POSTCOLECTOMÍA EN PACIENTES CON COLITIS ULCEROSA

J. Sánchez-Delgado\*, E. Domènech\*, M. Piñol\*\*, M. Rosinach\*, M. Mañosa\*, E. Cabré\* y M.A. Gassull\*

\*Digestivo Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, \*\*Cirugía Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.

La proctocolectomía total con o sin reservorio ileoanal (RIA) es la técnica quirúrgica de elección en la CU. La morbimortalidad postoperatoria se ha relacionado con el uso previo de esteroides pero no con otros factores clínicos y analíticos.

**Objetivo:** Evaluar la existencia de factores predictivos de complicaciones postquirúrgicas tempranas en pacientes con CU sometidos a colectomía.

**Material y métodos:** Se incluyeron 66 pacientes con CU colectomizados entre 1988 y 2002. Se registraron datos demográficos, referentes a la evolución y características de la CU, datos clínicos previos a la colectomía (IMC, índice de actividad de Truelove al ingreso y pre-colectomía), fármacos administrados previamente a la intervención (antibiótico, esteroides, AZA, C y A, tratamiento tópico), datos referentes a la intervención (indicación, tipo -con o sin RIA-, circunstancias -urgente vs. electiva-) y datos analíticos preoperatorios. Se realizó análisis univariante y multivariante de regresión logística.

**Resultados:** La media de edad fue de 43 ± 17 años. La indicación fue: 50% fallo tratamiento agudo, 30% fallo tratamiento crónico, 9% megacolon, 7% adenoma o neoplasia, 1% hemorragia masiva y 1% estenosis. El 29% de las colectomías fueron electivas, el 17% urgentes y el 55% preferentes (urgencia diferida). En 35/66 se practicó proctocolectomía con ileostomía definitiva y en 31/66 colectomía con ileostomía transitoria y fístula mucosa rectal. El 51,5% de los pacientes (34/66) presentó un total de 51 complicaciones, de las cuales 24 (47%) fueron consideradas como graves y se presentaron en 17 pacientes (26%). Se registraron 3 éxitos (4%). En el análisis uni-

variante, los factores predictivos de complicaciones fueron el índice de Truelove al ingreso, la dosis de AZA, la existencia de megacolon y el tipo de colectomía, pero sólo la existencia de megacolon y la dosis absoluta de AZA resultaron factores predictivos independientes en el análisis multivariante. En el caso de considerar sólo las complicaciones graves, los factores predictivos fueron el megacolon, la dosis de prednisona y el no haber sido tratado con C y A, pero sólo el megacolon tóxico resultó ser factor predictivo independiente.

**Conclusiones:** La indicación de colectomía por megacolon tóxico es el único factor predictivo de morbilidad grave a corto plazo tras la colectomía en la CU.

#### HIPERHOMOCISTEINEMIA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

C. Malagelada\*, F. Casellas\*, A. Carrera\*\*, C. Duran\*\* y J.R. Malagelada\*

\*Servei d'Aparell Digestiu Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona, \*\*Servei d'Hematologia Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

La homocisteína es un aminoácido derivado del metabolismo de la metionina que, cuando se encuentra en concentraciones elevadas, aumenta el riesgo de trombosis arterial y venosa. En la enfermedad inflamatoria intestinal se ha demostrado una mayor incidencia de complicaciones tromboembólicas, pero se desconoce si la hiperhomocisteinemia contribuye a dicho riesgo.

**Objetivo:** Determinar la prevalencia de hiperhomocisteinemia en los pacientes afectos de enfermedad de Crohn (EC) y colitis ulcerosa (CU) y relacionarla con otros aspectos clínico-biológicos de la enfermedad inflamatoria intestinal, tal como el riesgo de trombosis vascular.

**Método:** Se han incluido de forma prospectiva 121 pacientes procedentes de las consultas externas y planta de hospitalización del Servicio de Digestivo. Se determinaron las concentraciones de homocisteína, vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico, así como hemograma, parámetros nutricionales (albúmina, colesterol, calcio) y VSG. Se recogieron datos clínicos e índice de actividad clínica (de Rachmilewitz para la CU y de Harvey-Bradshaw para la EC).

**Resultados:** Se incluyeron 55 hombres y 66 mujeres que correspondieron a 56 casos de CU y 65 de EC, con una edad media de 37,5 años. Se objetivó hiperhomocisteinemia en 22 de los 121 pacientes (18,1%) con una concentración media de 10,8 micromol/L (95% IC: 9,2 - 12,4). La prevalencia fue significativamente mayor en hombres (30,9 vs. 7,5%), sin objetivarse una relación significativa con la edad, CU vs. EC, localización, índice anual de brotes, antecedente de resección ileal o tabaquismo. Mediante análisis multivariado se objetivó que el sexo masculino y niveles disminuidos de ácido fólico se asocian de forma independiente a hiperhomocisteinemia. Tres pacientes del grupo de hiperhomocisteinemia (3/22) y tres con homocisteína normal (3/99) tenían antecedentes de trombosis arterial o venosa (p = 0,07).

**Conclusiones:** En la enfermedad inflamatoria intestinal la hiperhomocisteinemia es frecuente, lo que podría asociarse con el mayor riesgo de complicaciones tromboembólicas. Factores como la foliopenia o el sexo masculino favorecen la hiperhomocisteinemia.

#### INCREMENTO DE LA NEOANGIOGÉNESIS EN LA MUCOSA DE LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

S. Danese\*, M. Sans\*, C. de La Motte\*\*, G.A. West\*, B.M. Rivera-Reyes\*, J. Willis\*\*\* y C. Fiocchi\*

\*Division of Gastroenterology Case Western Reserve University. Cleveland, Ohio, \*\*Department of Colorectal Surgery Cleveland Clinic Foundation. Cleveland, Ohio, \*\*\*Department of Pathology Case Western Reserve University. Cleveland, Ohio

**Introducción:** La neoangiogénesis juega un papel importante, no solo en el crecimiento tumoral, sino también en el desarrollo de algunas enfermedades de tipo inflamatorio, como la artritis reumatoide o la psoriasis. No obstante, no existe información sobre la exis-

tencia de neoangiogénesis en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) ni su posible participación en la fisiopatología de esta entidad.

**Objetivo:** 1) Investigar la existencia de neoangiogénesis en la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU) y 2) Verificar si en la mucosa de los pacientes con EII existe un aumento de factores proangiogénicos.

**Métodos:** Se obtuvieron preparaciones histológicas del colon de pacientes con EII activa y sujetos sanos. Se realizó la tinción del tejido colónico para los marcadores endoteliales CD31 y Von Willebrand y se llevó a cabo un análisis morfométrico computarizado de la vascularización colónica. Se realizó también la tinción del tejido para la integrina alfaVbeta3, como marcador de neoangiogénesis y se comprobó la localización endotelial de la misma, mediante microscopía confocal. Se obtuvieron células endoteliales microvasculares del intestino (HIMEC) y se estudió la expresión de alfaVbeta3 en dichas células, de forma basal y después de la estimulación con diversos factores proangiogénicos. Se cuantificó la concentración de IL-8 y bFGF en extractos de mucosa colónica de pacientes con EII activa y sujetos sanos y se realizaron estudios de migración de HIMEC, tras la estimulación con dichos extractos.

**Resultados:** Los pacientes con EC y CU presentaron un incremento significativo en diversos parámetros morfométricos, como densidad vascular, perímetro vascular, área media de los vasos, diámetro máximo de los vasos y porcentaje del campo ocupado por área vascular ( $p < 0,05$  para todos ellos). Se observó un marcado incremento en la expresión de alfaVbeta3 en los vasos de EC y CU, en relación a los de colon normal, en los que alfaVbeta3 fue prácticamente inexistente. La localización endotelial de alfaVbeta3 se demostró por su co-localización con CD31. Tanto TNF-alfa como bFGF incrementaron de forma significativa la expresión de alfaVbeta3 en HIMEC. Los extractos de mucosa colónica de EC y CU tuvieron una mayor concentración de IL-8 y bFGF que los de colon normal ( $p < 0,01$ ) e indujeron una migración de HIMEC tres veces mayor que la de los extractos de colon normal. Se demostró que dicha migración es dependiente de IL-8 y bFGF, mediante el bloqueo de estos factores con anticuerpos monoclonales.

**Conclusiones:** La mucosa colónica de los pacientes con EC y CU se caracteriza por un incremento de la vascularización y de la neoangiogénesis. La mucosa inflamada presenta, además, una mayor concentración de factores proangiogénicos y una mayor capacidad para estimular la neoangiogénesis. Estos hallazgos proporcionan la base para evaluar nuevas estrategias terapéuticas, basadas en la modulación de la angiogénesis.

#### LA MODULACIÓN DE LA FUNCIÓN BARRERA MUCOSA CONDICIONA LA RESPUESTA INNATA A LA FLORA NO PATÓGENA

M. Carol\*, M. Llopis\*, M. Antolín\*, A. Lugea\*, J.L. Sánchez\*\*, N. Borruel\*, F. Casellas\*, F. Guarner\* y J.R. Malagelada\*

\*Aparato Digestivo Hospital Vall d'Hebron. Barcelona, \*

\*Cirugía Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

**Introducción:** La barrera mucosa está constituida por distintas estructuras que mantienen la homeostasis intestinal. La hidrofobicidad de la mucosa colónica evita la entrada de moléculas hidrofílicas y protege frente a toxinas. En la enfermedad inflamatoria intestinal existe una respuesta inflamatoria exagerada frente a la flora comensal, y se ha sugerido que esta alteración podría ser secundaria a un defecto en la integridad de la barrera.

**Tabla. Concentración de citoquinas**

Condición: Estímulo:	Control			Diclofenaco (agresión)			PGE2 (protección)		
	blanco	<i>E. coli</i>	LPS	blanco	<i>E. coli</i>	LPS	blanco	<i>E. coli</i>	LPS
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	2,7 $\pm$ 1,1	8,6 $\pm$ 3,3	9,8 $\pm$ 5,1	11,3 $\pm$ 3	40,9 $\pm$ 11,5* <sup>†</sup>	52,7 $\pm$ 7,5* <sup>†</sup>	6,2 $\pm$ 2,3	2,7 $\pm$ 1,2 <sup>†</sup>	3,4 $\pm$ 1,9 <sup>†</sup>
IL-8 (ng/mL)	7,1 $\pm$ 2,7	6,9 $\pm$ 2,6	14,3 $\pm$ 5,4	9,3 $\pm$ 3,5	14,2 $\pm$ 5,4	21,4 $\pm$ 8,2*	13,5 $\pm$ 2,8	7,4 $\pm$ 2,8	7,0 $\pm$ 2,6 <sup>†</sup>
IL-10 (pg/mL)	1,5 $\pm$ 0,0	14,4 $\pm$ 12,9	53,6 $\pm$ 25,1	1,5 $\pm$ 0,0	34,6 $\pm$ 24,0	54,8 $\pm$ 36,4	14,0 $\pm$ 12,5	22,2 $\pm$ 13,3	25,4 $\pm$ 15,5

Media  $\pm$  ESM. \* $p < 0,05$  vs. blanco en la misma condición. <sup>†</sup> $p < 0,05$  vs. mismo agente disruptor.

**Objetivo:** Estudio de la respuesta inflamatoria de la mucosa de colon humana a una cepa no patógena de la flora humana, *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 35345), y a una toxina, lipopolisacárido (LPS), bajo distintas condiciones de integridad de la función barrera (control, agresión con diclofenaco y protección con PGE2).

**Material y métodos:** Se obtuvieron explantes de mucosa colónica, macroscópicamente normales, de pacientes sometidos a una resección colónica por neoplasia. Para el estudio de la hidrofobicidad se obtuvieron 134 muestras para cada condición estudiada y se incubaron durante 1h a 37°C en condiciones control (suero fisiológico), con diclofenaco (100 mg/mL) o con PGE2 (10 mg/mL), se determinó la hidrofobicidad mediante medida del ángulo de contacto. Para el cocultivo del tejido con *E. coli* o LPS, se obtuvieron 7 muestras por condición estudiada. Se realizó una preincubación de 1h a 37°C con los agentes mencionados (control, diclofenaco o PGE2) y una incubación de 8 h a 37°C en presencia de *E. coli* ( $10^6$  UFC), LPS (100 mg/mL) o sin adición de estímulo (blanco). Se determinó la viabilidad tisular (LDH) y el pH, los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-8 e IL-10 en el sobrenadante y se realizó un recuento microbiológico.

**Resultados:** La preincubación del tejido con diclofenaco disminuye significativamente la hidrofobicidad de la mucosa, en cambio la preincubación con PGE2 la aumenta (control:  $42,3 \pm 0,05^\circ$ , diclofenaco:  $35,4 \pm 0,06^\circ$ , PGE2:  $47,3 \pm 0,05^\circ$ ; media  $\pm$  ESM;  $p < 0,05$ ). En el estudio de cocultivo, no se observa correlación entre la viabilidad tisular y el pH con las distintas citoquinas estudiadas. *E. coli* se recupera en todos los sobrenadantes en una concentración media de  $10^7$  UFC/mL. En la tabla a pie de página se muestra la concentración de las distintas citoquinas.

**Conclusión:** La modificación de la hidrofobicidad superficial de la mucosa altera la interacción de la flora comensal con las células inmunocompetentes, y condiciona el perfil de citoquinas de la respuesta.

#### LOS LINFOCITOS T INDUCEN ACTIVACIÓN PLAQUETAR, DEPENDIENTE DE CD40, P38 Y RANTES: UN NUEVO MECANISMO DE AMPLIFICACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN LA MICROCIRCULACIÓN INTESTINAL

S. Danese\*, M. Sans\*, C. de La Motte\*\*, B.M. Rivera-Reyes\* y C. Fiocchi\*

\*Division of Gastroenterology Case Western Reserve University.

Cleveland, Ohio, \*\*Department of Colorectal Surgery Cleveland Clinic Foundation. Cleveland, Ohio.

**Introducción:** Se ha demostrado que las plaquetas expresan en su superficie la molécula coestimuladora CD40. Este hallazgo nos ha llevado a hipotetizar que las plaquetas podrían interactuar con linfocitos T activados, que expresan el ligando de CD40 (CD40L). Dicha interacción resultaría en la activación plaquetar y liberación de mediadores proinflamatorios, que contribuirían a un mayor reclutamiento de leucocitos, amplificando así la respuesta inflamatoria.

**Métodos:** Se aislaron plaquetas y linfocitos T de sangre periférica (PBT) de sujetos sanos y se realizaron cultivos de plaquetas y PBT autólogos. Se estudió la expresión de CD40 en la superficie de las plaquetas, mediante citometría de flujo. Para evaluar el grado de activación plaquetar se cuantificó la expresión de P-selectina en las plaquetas, mediante citometría de flujo y se estudió la fosforilación de las MAP quinasa p38 y ERK, mediante immunoblotting. La secreción de la quemoquina RANTES por parte de las plaquetas se

cuantificó mediante ELISA. Se aislaron células endoteliales microvasculares (HIMEC) a partir de piezas de resección del intestino. La unión de RANTES a HIMEC fue evaluada mediante microscopía confocal y citometría de flujo y su efecto en las interacciones leucocito-endotelio, mediante ensayos de adhesión leucocitaria.

**Resultados:** Las plaquetas expresaron CD40 en su superficie de forma constitutiva y la activación plaquetar mediante trombina no modificó dicha expresión. CD40L soluble produjo una marcada activación de las plaquetas, incrementando de forma dosis-dependiente la expresión de P-selectina. De forma parecida, los linfocitos T con elevada expresión de CD40L en su superficie (PBT activados y la línea tumoral D1.1) indujeron una mayor activación plaquetar que los linfocitos con baja expresión de CD40L (PBT no activados y Jurkat). La activación plaquetar mediante CD40L comportó la fosforilación de p38, pero no la de ERK, y la secreción de RANTES. El bloqueo de CD40L mediante anticuerpos monoclonales redujo de forma importante la activación plaquetar, la fosforilación de p38 y la producción de RANTES. El inhibidor específico de p38, SB205310, a su vez, redujo la activación plaquetar y la secreción de RANTES. RANTES, una vez liberado por las plaquetas, fue fijado en la superficie de HIMEC, incrementando la adhesión de linfocitos T a estas células endoteliales. El pretratamiento de HIMEC con Met-RANTES, un inhibidor del receptor de RANTES, redujo significativamente la adhesión leucocitaria.

**Conclusiones:** Las plaquetas pueden interactuar con los linfocitos T activados mediante las moléculas coestimuladoras CD40/CD40L. p38 juega un papel importante en la transmisión de la señal estimuladora, produciendo la secreción de RANTES por parte de las plaquetas activadas y un incremento de la adhesión leucocitaria al endotelio. Esta nueva forma de interacción entre plaquetas y linfocitos T puede contribuir a amplificar la respuesta inmunitaria en la microcirculación intestinal.

#### OPINIÓN Y ACTITUD DEL ESPECIALISTA DE APARATO DIGESTIVO SOBRE EL CONSUMO DE LÁCTEOS EN LA COLITIS ULCEROSA

D. Ginard, M. Escudero, J. Reyes, A. Escarda, L. Barranco y A. Obrador

*Aparato Digestivo Hospital Son Dureta. Palma*

**Introducción:** La prevalencia de Malabsorción de lactosa (ML) en la Colitis Ulcerosa (CU) no difiere, en los estudios realizados, de la población control. No obstante, la retirada de los lácteos ha sido una práctica habitual, en esta enfermedad. Hemos realizado una encuesta a 52 pacientes con CU y a un 46% de ellos se les había suprimido los lácteos de la dieta.

**Objetivo:** Valorar la opinión y actitud de los especialistas en Aparato Digestivo en relación al consumo de lácteos en los pacientes con CU.

**Material y métodos:** realizamos una encuesta por correo, a especialistas de aparato digestivo seleccionados de forma aleatoria, sobre la ML en la CU y las modificaciones en la dieta.

**Resultados:** Se enviaron 250 encuestas, 81 de las cuales fueron contestadas, lo que supone un 33%. El 23% de los médicos contestaron que la ML era más frecuente en la CU que en la población y un 33% más no tenían una opinión definida. Una tercera parte de los encuestados opinaban que la ML se puede modificar en función de la actividad y la extensión de la enfermedad. Un 12% de los médicos contestaron que la leche era perjudicial y un 43% consideraron

que solo era perjudicial en los brotes. El 9% aconsejaban la retirada total de la leche y el 54% durante los brotes. De estos, 2/3 permiten la ingesta de derivados.

**Conclusiones:** 1) Aunque los estudios realizados demuestran que la ML en pacientes con CU no es superior a la de la población, el 23% de los médicos opinaron que la ML era superior en la CU y 1/3 no tenía una opinión definida; 2) Solo el 9% de los médicos entrevistados retiran de forma sistemática la leche de la dieta y 3) La supresión de la leche durante los brotes sigue siendo una práctica mayoritaria.

#### SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO CON AZATIOPRINA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL. ¿SIRVE DE ALGO LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD TPMT ERITROCITARIA?

M. Mañosa, J. Sánchez-Delgado, M. Navarro, L. Fluvià, E. Domènech, E. Cabré y M<sup>a</sup>.A. Gassull

*Digestivo Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.*

La utilidad de determinar la actividad tiopurin-metil-transferasa eritrocitaria (TPMTe) previo al inicio del tratamiento con azatioprina (AZA) se limita a excluir a aquellos pacientes con riesgo elevado de aplasia medular (TPMTe < 5 U/ml RBCs). Recientemente se ha apuntado la posibilidad de un mayor riesgo de hepatotoxicidad en pacientes con TPMTe elevada.

**Objetivos:** Evaluar: 1) La prevalencia de TPMTe baja en una serie amplia de pacientes con EII; 2) El perfil de seguridad a largo plazo del tratamiento con AZA y 3) La relación de la TPMTe basal con la mielotoxicidad y hepatotoxicidad.

**Métodos:** se evaluaron 99 pacientes afectados de EII consecutivos a los que se determinó la TPMTe basal por el método de Weinshilbom con ajuste al hematocrito y concentración de proteínas y que pudieron realizar un mínimo de 6 meses de tratamiento con AZA. Todos ellos siguieron controles clínicos y analíticos mensuales durante el primer año y trimestrales, posteriormente. Se evaluó la aparición de toxicidad por AZA y se registró la conducta adoptada al respecto (expectante, reducción dosis, retirada AZA, reintroducción).

**Resultados:** Cuatro pacientes (4%) presentaron TPMTe < 5, contraindicando el tratamiento. El valor medio de TPMTe fue de 13,7 U/ml RBCs (rango 4-19,5). El tiempo medio de tratamiento (seguimiento) fue de 21,27 meses (rango 0-60). El 34% de los pacientes tratados (32/95) presentó 39 efectos adversos: 15% (14/95) mielotoxicidad (neutropenia, linfopenia, anemia macrocítica), 7% (7/95) hepatotoxicidad, 6% (6/95) intolerancia digestiva, 5% (5/95) pancreatitis aguda, 2% (2/95) cefalea, 2% (2/95) sd. flu-like, 1% (1/95) dermatotoxicidad, 1% (1/95) hepatitis colestásica y 1% (1/95) astenia. El 66% (21/32) de los pacientes con efectos adversos requirió la retirada definitiva de AZA; el 44% (17/39) de los efectos adversos se solucionaron con reducción de la dosis que pudo reintroducirse en 6 de ellos. El tiempo entre el inicio del tratamiento y la aparición de toxicidad osciló entre 60 y 540 días para la mielotoxicidad y 60-1100 días para la hepatotoxicidad. No se halló correlación alguna entre los niveles basales de TPMTe y la toxicidad general, mielotoxicidad o hepatotoxicidad.

**Conclusiones:** En nuestro medio y en pacientes con una enfermedad de base genética como la EII, la prevalencia de TPMTe baja es considerable, lo que justifica su determinación de forma sistemática. La hepatotoxicidad es un efecto adverso más frecuente de lo descrito y no parece estar en relación con una TPMTe elevada.