

ciberred

PLAN DE ACCIÓN 2015

Programa 1: Hipertensión portal y mecanismos de transición a cirrosis

Coordinador: A. Albillos

Coordinadores adjuntos: P. Ginés, J.C. García-Pagán

El Programa 1 del Ciberehd se denomina “Hipertensión portal y mecanismos de transición a cirrosis” y su objetivo estudiar los mecanismos patogénicos de fibrogénesis hepática y de hipertensión portal y desarrollar fármacos y estrategias terapéuticas que mejoren la fibrosis hepática y la hipertensión portal y sus complicaciones (hemorragia por varices esofagogástricas, ascitis e insuficiencia renal, infección bacteriana, encefalopatía hepática). El Programa se ejecuta fundamentalmente por proyectos de investigación traslacional cooperativa, así como por la contribución de los proyectos específicos de los grupos integrantes.

Las líneas en las que se articula la investigación en el Programa 1 son 1) hipertensión portal, 3) ascitis/función renal, 4) infección y traslocación bacteriana y 5) encefalopatía hepática.

1. Relevancia y orientación de la investigación en el Programa 1

En España, las enfermedades hepáticas crónicas se sitúan entre las 10 primeras causas de muerte y son un motivo importante de morbilidad. La historia natural de la enfermedad hepática crónica desde su inicio hasta que alcanza el estadio de cirrosis es prolongada. La muerte del paciente con cirrosis sobreviene cuando lo hacen las complicaciones derivadas de la hipertensión portal (como la hemorragia por varices esofagogástricas, la ascitis y el síndrome hepatorenal, las infecciones bacterianas y la encefalopatía hepática) y/o el cáncer hepático primario. Las complicaciones de la hipertensión portal son también la causa de muerte más habitual entre los pacientes en lista de espera de trasplante hepático. Los avances que se produzcan en el futuro en el tratamiento de estas complicaciones redundarán en una mejora en la calidad y esperanza de vida de los pacientes con enfermedad hepática crónica.

Hipertensión portal y fibrogénesis.

Los diferentes agentes etiológicos de la enfermedad hepática crónica causan daño tisular, inflamación y necrosis hepatocitaria. A semejanza de lo que ocurre en otros tejidos de la economía, la inflamación es el proceso básico por el que el hígado responde al daño. Los programas subsiguientes de reparación celular, regeneración y fibrosis determinarán los pacientes que se recuperarán o en los que la fibrosis progresiva y la regeneración tisular anormal conducirán a la cirrosis. El tipo de programa depende del agente lesivo y de las características individuales de respuesta. La cirrosis se define por la presencia de fibrosis hepática y nódulos de regeneración y sus consecuencias son la insuficiencia hepatocelular por extinción de unidades hepáticas funcionantes y la hipertensión portal y sus complicaciones que resultan de la fibrosis y de la distorsión vascular.

Clarificar los mecanismos moleculares y celulares subyacentes a los procesos de inflamación y fibrogénesis es clave para diseñar y desarrollar terapias que frenen la transición a cirrosis y resulten eficaces para los pacientes con enfermedades hepáticas. Aunque esta aproximación no es incompatible con tratamientos específicamente dirigidos frente a los agentes responsables de las enfermedades hepáticas, también es cierto que la mayoría de los pacientes pueden beneficiarse de terapias que aminoren el daño celular y la fibrosis hepática,

que suelen ya haberse iniciado cuando los enfermos requieren atención médica. El objetivo de la investigación clínica ha de ser la evaluación de fármacos que eviten la muerte hepatocitaria, modulen la respuesta inflamatoria, inhiban la fibrosis y promuevan la reparación y la regeneración hepática ordenada. Un aspecto clave y desconocido es la influencia de la genética en la expresión de la enfermedad hepática, en la fibrogénesis y en la respuesta al tratamiento.

Puntos clave de investigación: Fibrogénesis.

- Desarrollar marcadores no invasivos de fibrosis
- Estudiar el papel de los componentes celulares del sistema inmune y de sus mediadores en el daño, la fibrogénesis y la regeneración hepática, así como las respuestas específicas de las células hepáticas a los mediadores de la inflamación.
- Definir el papel que desempeñan los factores genéticos en la aparición del daño y en la progresión de la fibrosis en la enfermedad hepática crónica.
- Caracterizar mediante sistemas de identificación de alto rendimiento genes potencialmente implicadas en las rutas de señalización de la fibrogénesis y la citotoxicidad.

La progresión de la cirrosis conduce a la hipertensión portal, y esta determina el desarrollo de las varices esofágicas, la ascitis y la insuficiencia renal. Las complicaciones de la cirrosis están en relación directa con la grado de la hipertensión portal y sólo ocurren cuando la presión portal, estimada por la medida del gradiente de presión venosa hepática, supera un valor determinado (10 mmHg). Por tanto, en la historia natural de la cirrosis, el aumento de la presión portal por encima de dicho valor es uno de los factores de riesgo de complicaciones y muerte más potentes que se conocen. La medida de la presión portal sirve para identificar a los pacientes con cirrosis en riesgo de complicaciones y a los que urge tratar y, además, establece cuál ha de ser el objetivo terapéutico. Se desconoce si el tratamiento con fármacos que reducen la presión portal a pacientes cuya presión portal se encuentra elevada disminuye el riesgo de desarrollar complicaciones de la hipertensión portal.

Hace años se consideraba que la hipertensión portal era una complicación fija de la fibrosis y del remodelado del hígado que tiene lugar en la cirrosis. Estudios recientes en modelos experimentales sugieren que a la patogenia de la hipertensión portal también contribuye un componente funcional, dinámico y reversible. Los vasoconstrictores endógenos como la angiotensina y la endotelina, entre otros, incrementan la presión portal cuando se administran de forma aguda y pueden contribuir al síndrome crónico de hipertensión portal. El óxido nítrico y los donadores de óxido nítrico reducen aguda y crónicamente la presión portal. De hecho, se considera que el defecto básico que subyace al aumento del tono vascular del hígado cirrótico es un daño en la producción de óxido nítrico por las células endoteliales de los sinusoides hepáticos. La potencial implicación de otras moléculas, cuyo exceso o déficit podría compensar o exacerbar el defecto de producción de óxido nítrico, constituye un objetivo fundamental de la investigación en este área. Por otra parte, han sido objeto de interés los mecanismos por los que se forman las colaterales porto-sistémicas en la hipertensión portal, de las que las varices esofagogástricas son el ejemplo más representativo. Se ha constatado que la formación de las colaterales obedece en gran medida a angiogénesis y neoformación vascular, lo que implica que el bloqueo de los mediadores moleculares de estos procesos constituye una nueva diana terapéutica en hipertensión portal.

La hemorragia variceal continua siendo una causa importante de morbi-mortalidad en pacientes con enfermedad hepática crónica. Aunque hay herramientas efectivas para disminuir el riesgo de hemorragia variceal (beta-bloqueantes, ligadura endoscópica con bandas, derivación portosistémica percutánea intrahepática o TIPS), ninguno es enteramente efectivo o carente de efectos adversos. En concreto, los tratamientos médicos para reducir la presión portal tienen una eficacia limitada y, por ejemplo, una gran proporción de pacientes no experimenta beneficio alguno de la terapia con beta-bloqueantes. El tratamiento óptimo de otras situaciones dista mucho de estar definido como el de la profilaxis primaria de la hemorragia variceal en pacientes con varices grandes, el de la prevención del resangrado en pacientes no respondedores al tratamiento farmacológico o el manejo de los pacientes con varices del fundus gástrico. Tampoco se ha establecido aún en el algoritmo de manejo de estos pacientes la utilidad clínica que posee la medida de la presión portal. Un aspecto adicional objeto de interés creciente es la búsqueda de métodos alternativos al cateterismo venoso para medir la presión portal. Si bien el cateterismo puede hacerse con seguridad y mínimas molestias al paciente, también es cierto que es un procedimiento invasivo, mal estandarizado y para el que pocos médicos han recibido una formación específica.

Puntos clave de investigación: Hipertensión portal

- Estudiar la estrategia óptima para la profilaxis primaria y secundaria y el tratamiento de la hemorragia variceal, testando diferentes aproximaciones clínicas.
- Estudiar diferentes factores (obesidad, inflamación) que pueden contribuir al aumento de la presión portal en la cirrosis y las consecuencias de su manipulación terapéutica.
- Investigar si la modulación en los estadios iniciales de la cirrosis de moléculas implicadas en la patogenia de la fibrogénesis hepática y la hipertensión su administración en los estadios iniciales de la cirrosis enlentece la progresión de ésta.
- Desarrollar métodos no o escasamente invasivos para estimar la presencia y el grado de hipertensión portal, como la elastografía de transición, otros métodos de imagen o pruebas serológicas, para diagnosticar la presencia de cirrosis y de varices esofagogástricas con riesgo de hemorragia.
- Identificar las rutas de señalización y los mecanismos moleculares implicados en la regulación del tono vascular hepático y en la neorformación de vasos colaterales portosistémicos: desarrollar herramientas terapéuticas apropiadas para cada uno de los estadios del paciente con hipertensión portal.

Ascitis y función renal. Insuficiencia hepática. Un área en la que se han logrado avances considerables ha sido el manejo de la ascitis y el síndrome hepatorenal, estableciendo la eficacia de la paracentesis terapéutica y el TIPS, de la infusión de albúmina y de los vasoconstrictores espláncnicos como la terlipresina. Más limitados han sido los avances en comprender los mecanismos por los que un precipitante, como una hemorragia digestiva o una infección bacteriana, causa un deterioro agudo de la función hepática en un paciente con cirrosis, entidad conocida como “fracaso hepático agudo-sobre-crónico”. En algunos enfermos este deterioro se acompaña de complicaciones de la hipertensión portal, como encefalopatía e insuficiencia renal, y en este grupo la mortalidad es muy elevada. Los criterios diagnósticos, los factores pronósticos y el tratamiento más apropiado de esta entidad distan mucho de estar clarificados.

Puntos clave de investigación: Ascitis y función renal. Insuficiencia hepática

- Sistematizar el tratamiento de las diferentes formas de insuficiencia renal que complican la cirrosis.
- Caracterizar los mecanismos patogénicos, los factores etiológicos y las formas evolutivas de la insuficiencia hepática aguda que aparece en pacientes con cirrosis hepática.
- Establecer el papel de diferentes estrategias para el tratamiento de los pacientes con insuficiencia hepática aguda sobre crónica, incluyendo la infusión de albúmina, el recambio plasmático con albúmina y los sistemas de soporte hepático artificial.

Infección y traslocación bacteriana. En los últimos años se ha reconocido la importancia de la infección bacteriana, cuyo riesgo está aumentado en el paciente con cirrosis, en agravar el curso de las complicaciones de la hipertensión portal e incluso el de la propia cirrosis al favorecer el desarrollo de insuficiencia hepática. La infección bacteriana se ve favorecida por la concurrencia en la cirrosis de una tasa alta de traslocación bacteriana intestinal y de defectos insuficientemente definidos en el sistema inmunitario. Es por ello se está investigando activamente es esclarecer la patogenia de los defectos del sistema inmune que subyacen a la traslocación e infección bacteriana en la cirrosis, así como buscar marcadores para identificar a los pacientes con alto riesgo de infección bacteriana.

Puntos clave de investigación: Infección y traslocación bacteriana

- Caracterizar la causa de la mayor susceptibilidad a la infección bacteriana de los pacientes con cirrosis. Investigar los mecanismos inmunitarios implicados en la patogenia de la infección bacteriana en los diferentes estadios de la cirrosis humana y experimental.

Encefalopatía hepática. Pese a ser una de las complicaciones que afecta más negativamente a la calidad de vida de los pacientes con cirrosis, los avances en el diagnóstico y tratamiento de la encefalopatía hepática distan mucho de lo alcanzado en otras áreas. En los últimos años se ha investigado en la relevancia del edema cerebral en la patogenia de encefalopatía hepática de la cirrosis, se ha constatado la importancia de la encefalopatía hepática mínima y se han hecho progresos terapéuticos como son evitar la restricción de las proteínas de la dieta o la utilidad de antibióticos, como la rifaximina, para prevenir la recurrencia de la encefalopatía. No obstante, es preciso establecer el método de diagnóstico, el significado y la implicación de la encefalopatía hepática mínima, depurar las escalas de gradación de la encefalopatía y demostrar la utilidad real de medidas terapéuticas de uso habitual como la propia lactulosa.

Puntos clave de investigación: Encefalopatía hepática

- Investigar los mecanismos patogénicos del edema cerebral en la cirrosis: desarrollo de modelos experimentales.
- Desarrollar métodos apropiados para el diagnóstico y gradación de la encefalopatía hepática. Establecer la eficacia de las opciones terapéuticas disponibles en los diferentes grados de encefalopatía.

2. Descripción del Programa 1: líneas de investigación y grupos integrantes

2.1. Objetivo general y líneas de investigación

El Programa 1 centra su actividad en investigar la patogenia, diagnóstico y tratamiento de la cirrosis hepática, la hipertensión portal y sus complicaciones. Las líneas en las que se articula el Programa son:

- 1) hipertensión portal,
- 2) ascitis/función renal e insuficiencia hepática
- 3) infección y traslocación bacteriana y
- 4) encefalopatía hepática.

2.2. Estructura organizativa y grupos integrantes

El coordinador del programa 1 del Ciberehd es Agustín Albillos (jefe del grupo 1), y los subcoordinadores son Juan Carlos García-Pagán (perteneciente al grupo 4) y Pere Ginés (jefe del grupo 2).

Los grupos desarrollan su actividad investigadora en las líneas del Programa 1. En consecuencia, cada grupo lleva a cabo actuaciones específicas y distintivas del mismo y proyectos cooperativos con otros grupos del Programa. Todos los grupos son clínicos y además disponen de un laboratorio experimental lo que permite desarrollar investigación traslacional mediante estudios mecanísticos, estudios clínicos traslacionales de prueba de concepto y ensayos clínicos.

La descripción actualizada de los 8 grupos integrantes es la siguiente:

Grupo	Centro	Jefe de grupo	Líneas de investigación en las que trabaja el grupo	Componentes	Componentes IPs
1	Universidad de Alcalá-Hospital Ramón y Cajal, Madrid	Agustín Albillos	Ascitis y función renal Infección/traslocación bacteriana Encefalopatía hepática	9	3
2	Hospital Clínic Barcelona	Pere Ginés	Ascitis/función renal Infección/traslocación bacteriana Encefalopatía hepática	15	7
3	Hospital Gregorio Marañón, Madrid	Rafael Bañares	Hipertensión portal	11	2
4	Hospital Clínic Barcelona	Jaime Bosch	Hipertensión portal Infección/traslocación	10	5

			bacteriana		
5	Hospital Valle de Hebrón, Barcelona	Juan Genescá	Encefalopatía hepática	6	1
6	Hospital San Pablo, Barcelona	Carlos Guarnier	Hipertensión portal Ascitis/función renal Infección/traslocación bacteriana	6	1
7	Hospital Germans Trias, Badalona	Ramón Planas	Hipertensión portal Ascitis/función renal Infección/traslocación bacteriana Encefalopatía hepática	5	1
8	Hospital General Universitario, Alicante.	José Such	Ascitis/función renal Infección bacteriana	8	2

2.3. Actividades de investigación específicas de cada grupo

Además de la investigación cooperativa que se describirá posteriormente, el desarrollo del Programa 1 requiere de las actuaciones específicas de los grupos que se enumeran a continuación:

Grupo 1:

Línea 1a: Optimización diagnóstica y terapéutica en la hipertensión portal y complicaciones de la cirrosis. Investigador principal: Agustín Albillos

Línea 1b: Mecanismos patogénicos de las alteraciones del sistema inmune/inflamatorio en la cirrosis humana y experimental: consecuencias fisiopatológicas de la traslocación bacteriana. Investigador principal: Agustín Albillos

Grupo 2:

Línea 2a: Nuevos desarrollos diagnósticos y terapéuticos en la insuficiencia renal y en el síndrome hepatorenal en la cirrosis. Investigador principal: Pere Ginès.

Línea 2b: Síndrome de fracaso hepático agudo-sobre-crónico. Investigador principal: Pere Ginès.

Línea 2c: Aplicación de la biología de sistemas a la investigación de los mecanismos de progresión de las enfermedades hepáticas. Investigador principal: Pere Ginès.

Línea 2d: Investigación del papel de las células madre hepáticas en las enfermedades crónicas del hígado. Investigador principal: Pere Ginès.

Línea 2e: Influencia de los mediadores lipídicos e inflamatorios en la fibrogenesis hepática. Investigador principal: Juan Claria.

Grupo 3:

Línea 3a: Optimización diagnóstica y terapéutica en la hipertensión portal y complicaciones de la cirrosis. Investigador principal: Rafael Bañares.

Línea 3b: Mecanismos de regeneración hepática: relevancia de la inflamación. Investigador principal: Javier Vaquero

Grupo 4:

Línea 4a: Optimización diagnóstica y terapéutica en la hipertensión portal y complicaciones de la cirrosis. Validación de métodos no invasivos de evaluación de la hipertensión portal y la respuesta al tratamiento. Investigador principal: Jaime Bosch.

Línea 4b: Regulación del tono vascular hepático. Investigador principal: Juan Carlos García-Pagán.

Línea 4c: Implicación y regulación de la angiogénesis en la hipertensión portal. Investigador principal: Mercedes Fernández.

Línea 4d: Mecanismos moleculares y relevancia clínica de la insulino-resistencia en la disfunción endotelial del sinusoides hepático. Investigador principal: Juan González-Abraldes.

Grupo 6:

Línea 6a: Mecanismos y consecuencias fisiopatológicas de la traslocación bacteriana en la cirrosis: Influencia de la microflora intestinal. Investigador principal: Carlos Guarnier.

Línea 6b: Optimización terapéutica de la hemorragia aguda por varices. Investigador principal: Cándido Villanueva.

Línea 6c: Encefalopatía hepática y síndrome de fragilidad en la cirrosis: prevención, tratamiento e influencia en la calidad de vida. Investigador principal: Germán Soriano.

Grupo 7:

Línea 7a: Estudio proteómico del cáncer hepático infantil y del adulto: identificación de factores diagnóstico y pronóstico, vías de señalización clave y nuevas dianas terapéuticas. Investigador principal: Ramón Planas.

Línea 7b: Desarrollos terapéuticos en hepatitis crónica C. Investigador principal: Ramón Planas.

Línea 7c: Optimización diagnóstica y terapéutica en la hipertensión portal y complicaciones de la cirrosis. Investigador principal: Ramón Planas.

Línea 7d: Mecanismos y consecuencias fisiopatológicas de la traslocación bacteriana en la cirrosis. Investigador principal: Ramón Planas.

Grupo 8:

Línea 8a: Mecanismos y consecuencias fisiopatológicas de la traslocación bacteriana en la cirrosis. Investigador principal: José Such.

Línea 8b: Regulación de la respuesta inflamatoria en modelos experimentales de cirrosis: influencia de la microbiota intestinal. Investigador principal: Rubén Francés.

Grupo 9:

Línea 9a: Optimización diagnóstica y terapéutica en encefalopatía hepática. Investigador principal: Juan Genescá

Línea 9b: Neurodegeneración y neuromodulación en la encefalopatía hepática: desarrollo de modelos experimentales y de nuevas terapias

3. Proyectos cooperativos

A continuación se muestran los proyectos de investigación traslacional cooperativa que desarrollan las líneas de investigación que desarrollan el Programa 1. Presentamos una descripción pormenorizada de cada proyecto y sus resultados esperables desglosados como hitos y entregables.

3.1. Línea de hipertensión portal

Proyecto 1: Eficacia del tratamiento con beta-bloqueantes para prevenir la descompensación de la cirrosis con hipertensión portal: estudio multicéntrico, aleatorizado, doble-ciego

Antecedentes: Los pacientes con hipertensión portal clínicamente significativa (gradiente de presión portal >10 mmHg) presentan un riesgo de desarrollar complicaciones de la hipertensión portal del 40% a los 5 años. El riesgo de aparición de estas complicaciones es menor en los pacientes en los que la presión portal disminuye >10%. El tratamiento con beta-bloqueantes puede ser útil para reducir el riesgo de estas complicaciones.

Objetivo: Estudiar la eficacia de la administración de beta-bloqueantes para prevenir la aparición de complicaciones en pacientes con cirrosis e hipertensión portal significativa.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital San Pablo (centro coordinador), Hospital Ramón y Cajal, Hospital Gregorio Marañón, Hospital Clinic, Hospital Valle de Hebrón, Hospital Germán Trías.

Otros centros implicados: Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Hospital de Lleida.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I-III	2009	Escribir el protocolo	Protocolo
		Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
		Enviar a la Agencia Española del Medicamento	Obtención de la aprobación
		Solicitud de financiación	Financiación obtenida
IV	2010	Preparación del material/medicación	Documento de recepción de material/medicación en los centros
IV	2010	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
IV	2012	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
IV	2013	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
IV	2013	Concesión por el ISCiii de nuevo proyecto para extender el seguimiento a 3 años	

V	2014	Elaboración de la base de datos de los primeros 3 años	Base datos
V	2015	Continuar seguimiento	
VI	2015	Análisis final del estudio	Informe
VII	2016	Preparación de manuscritos	Modificación de guías clínicas

Proyectos asociados al proyecto 1:

Al proyecto 1 se le asocian varios subproyectos de índole mecanicista:

Proyecto asociado 1.1: Metabolómica en plasma de pacientes con cirrosis hepática: capacidad para predecir el pronóstico clínico y la respuesta hemodinámica al propranolol.

Objetivo: Investigar la capacidad del estudio metabolómico del plasma de pacientes con cirrosis hepática para predecir el pronóstico y la respuesta hemodinámica a la administración de propranolol.

Centros CIBER-EHD implicados: CIC-Biogune y grupos implicados en el proyecto 1

Necesidad de coordinación multicéntrica: Centralizar y realizar el estudio metabolómico, colaboración en el reclutamiento.

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del estudio:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I-IV	2010-2013	<p>Escribir el protocolo</p> <p>Enviar a los Comités Éticos</p> <p>Enviar a la Agencia Española del Medicamento</p> <p>Inicio de la inclusión</p>	<p>Protocolo</p> <p>Obtención de la aprobación</p> <p>Obtención de la aprobación</p> <p>Documento de inicio de la inclusión</p>
IV	2014	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
V	2015	Estudios Metabolómicos	Resultados metabolómicos
V	2015	Análisis final del estudio	Documento de

			análisis final del estudio
V	2015	Solicitud registro patente	Obtención patente perfil metabólico
VI	2016	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar

Proyecto 2: Eficacia de la asociación de estatinas al tratamiento estándar para prevenir la recidiva hemorrágica en pacientes con cirrosis hepática y hemorragia por varices previa: estudio multicéntrico, aleatorizado, doble-ciego.

Antecedentes: La reducción de la presión portal es el principal determinante de la eficacia del tratamiento farmacológico de la hipertensión portal. Los beta-bloqueantes (propranolol, nadolol) reducen de forma eficaz la presión portal en un 30-40% de los pacientes con historia de hemorragia. La adición de estatinas a los beta-bloqueantes puede potenciar el efecto de estos reduciendo la presión portal. Las estatinas reducen la resistencia vascular hepática y la presión portal en pacientes y en modelos experimentales de hipertensión portal.

Objetivo: Investigar si las estatinas potencian la eficacia del tratamiento estándar (beta-bloqueantes y ligadura) para prevenir la recidiva hemorrágica en pacientes con cirrosis y hemorragia variceal previa.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Clinic (centro coordinador), Hospital Ramón y Cajal, Hospital Gregorio Marañón, Hospital Valle de Hebrón, Hospital San Pablo, Hospital Germán Trias.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del estudio:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2010	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2010	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
II	2010	Enviar a la Agencia Española del Medicamento	Obtención de la aprobación
III	2010	Solicitud de financiación	Financiación obtenida
IV	2010	Preparación del material/medicación	Documento de recepción de material/medicación en

			los centros
IV	2011	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
V	2012	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
VI	2013	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
VII	2013	Fin de seguimiento	Documento de fin del seguimiento y cierre del estudio
VIII	2013	Elaboración de la base de datos	Base datos
IX	2014	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
X	2014	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
XI	2015	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar
XII	2015	Reuniones para modificar las recomendaciones clínicas	Modificación de guías clínicas

Proyecto 3: Efecto de la pérdida ponderal sobre el gradiente de presión portal en pacientes cirróticos con obesidad/sobrepeso: estudio multicéntrico, aleatorizado.

Antecedentes: En pacientes cirróticos compensados el sobrepeso y la obesidad están representados de manera similar a la población general, y son por tanto muy frecuentes. Se ha demostrado que el exceso de IMC actúa como factor de riesgo para el desarrollo de descompensación en pacientes con cirrosis compensada, independientemente de otros predictores como el grado de hipertensión portal y la severidad de la insuficiencia hepática. Puesto que el sobrepeso y la obesidad representan un riesgo para los pacientes cirróticos, y que son factores potencialmente modificables, es probable que la disminución de peso corporal pueda reducir el riesgo de progresión de la enfermedad hepática en estos pacientes.

Objetivo: Investigar en pacientes cirróticos con obesidad o sobrepeso el impacto de la pérdida ponderal sobre el gradiente de presión portal y las pruebas cuantitativas de función hepática.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Ramón y Cajal, Hospital Gregorio Marañón, Hospital Clinic (centro coordinador).

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Solicitudes en evaluación

El análisis intermedio (octubre de 2012) con el 55% de los pacientes incluidos, mostró que se ha conseguido el objetivo de pérdida ponderal en el 60% de los casos. Ello es mucho más de lo esperado (30-40%) y permite plantear la oportunidad de hacer una enmienda al protocolo, reduciendo el cálculo de la muestra a 50 pacientes.

Desarrollo del estudio:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2010	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2010	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
III	2010	Solicitud de financiación	Financiación obtenida
IV	2011	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
IV	2012	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
IV	2013	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
V	2013	Elaboración de la base de datos	Base datos
V	2014	Análisis de datos hemodinámicos del estudio	Documento de datos hemodinámicos del estudio
VI	2015	Determinación de parámetros bioquímicos	Documento de resultados
VII	2014-15	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VIII	2015	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar

Proyecto asociado 3.1:

El objetivo general del proyecto 4 es conocer la influencia de la obesidad sobre la hipertensión portal. Para alcanzar este objetivo al proyecto 3 se le asocia un subproyecto de índole mecanicista en modelos murinos para evaluar los mediadores moleculares implicados en el posible efecto agravante de la obesidad en la hipertensión portal.

Proyecto 4: Ensayo clínico fase II, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, bicéntrico, sobre los efectos de sapropterina en la hemodinámica hepática y sistémica en pacientes con cirrosis hepática e hipertensión portal

Antecedentes: La menor biodisponibilidad de óxido nítrico, cuya enzima de síntesis (NO sintasa) requiere tetrahidrobiopterina (BH₄) como cofactor intrahepático, contribuye a la disfunción endotelial intrahepática y al aumento de la presión portal en la cirrosis. De hecho, la

BH₄ mejora la disfunción endotelial y reduce la presión portal en modelos experimentales de cirrosis hepática.

Objetivo: Estudiar si la administración de sapropterina (copia sintética de tetrahidrobiopterina) puede ser un tratamiento eficaz de la hipertensión portal en pacientes con cirrosis.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Clinic (centro coordinador), Hospital Ramón y Cajal,

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Ministerio de Sanidad

Desarrollo del estudio:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2011	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2011	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
III	2011	Solicitud de financiación	Financiación obtenida
IV	2011	Preparación del material/medicación	Documento de recepción de material/medicación en los centros
IV	2012	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
V	2012	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
IV	2013	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
V	2013	Elaboración de la base de datos	Base datos
VI	2013	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
VII	2014	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VIII	2015	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar

Proyecto 5: Efectos del bloqueo beta-adrenérgico sobre la función cardiaca, la hemodinámica sistémica y esplácnica y la función renal en pacientes cirróticos con ascitis refractaria. Estudio ALB-BET.

Antecedentes: Los beta-bloqueantes pueden comprometer la función renal y la supervivencia de los pacientes con ascitis refractaria.

Objetivo: Estudiar el efecto en la función cardiaca, en la hemodinámica sistémica y esplácnica y en la función renal de la administración de propranolol en pacientes con ascitis refractaria.

Centros CIBER-EHD: Hospital Ramón y Cajal (centro coordinador), Hospital Gregorio Marañón.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Complementariedad de técnicas e Incremento del ritmo de reclutamiento

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2012	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2013	Aprobación por los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
III	2013	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
IV	2014	Inclusión	
V	2015	Continuación de la inclusión	Documento de análisis intermedio
VI	2016	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión y de cierre del estudio
VII	2016	Elaboración de la base de datos	Base datos
VII	2016	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
VIII	2016	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VIII	2016	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar
IX	2016	Reuniones para modificar las recomendaciones clínicas	Modificación de guías clínicas

3.2. Línea de ascitis/función renal e insuficiencia hepática

Proyecto 6: Estudio clínico sobre los efectos de la administración prolongada de albúmina y midodrina en la prevención de complicaciones en pacientes con cirrosis hepática en lista de espera de trasplante hepático (Estudio MACHT).

Antecedentes y objetivo: La administración prolongada de albúmina al 20% y midodrina mejora la disfunción circulatoria y puede prevenir las complicaciones en pacientes con cirrosis y ascitis en lista de espera de trasplante hepático. El objetivo del estudio es Evaluar el efecto de la administración prolongada de albúmina y midodrina sobre la reducción de la incidencia de complicaciones (insuficiencia renal, hiponatremia, sepsis, hemorragia digestiva y encefalopatía hepática) en pacientes con cirrosis en lista de espera de trasplante hepático.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Clínic (centro coordinador), Hospital Vall d'Hebrón, Hospital de Bellvitge.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento.

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2007	Escribir el protocolo	Protocolo
II	Enero 2008	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
II	Enero 2008	Enviar a la Agencia Española del Medicamento	Obtención de la aprobación
III	Financiación obtenida	Solicitud de financiación	Financiación obtenida
IV	2008	Preparación del material/medicación	Documento de recepción de material/medicación en los centros
IV	Agosto 2008	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
IV	2013	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
IV	2014	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
IV	2014	Fin de seguimiento	Documento de fin del seguimiento y cierre del estudio

V	2015	Elaboración de la base de datos	Base datos
V	2015	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
VI	2015	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VI	2016	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar
VII	Semestrales	Reuniones para modificar las recomendaciones clínicas	Modificación de guías clínicas

Proyecto 7: Tratamiento del síndrome hepatorenal con terlipresina en infusión ajustada a la respuesta hemodinámica (Estudio Ameliorate).

Antecedentes y objetivo: Estudios recientes sugieren que el ajusta de la dosis de terlipresina en base a la respuesta hemodinámica y la modificación en su forma de administración (infusión continua en lugar de bolos endovenosos) podría comportar una mejoría en la eficacia del tratamiento. Por tanto el objetivo de este estudio es observar el efecto sobre la función renal en pacientes con SHR tipo 1 tratados con terlipresina junto con albúmina ajustando la dosis de terlipresina en base a la mejoría en la función hemodinámica y administrando la terlipresina en infusión continua

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Clínic (centro coordinador), Hospital de Sant Pau, Hospital Vall d'Hebron, Hospital del Mar, Hospital Germans Trias i Pujol, Hospital Moisès Broggi, Corporació Sanitària Parc Taulí

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento.

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2011	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2011	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación
II	2011	Enviar a la Agencia Española del Medicamento	Obtención de la aprobación

III	Financiación obtenida	Solicitud de financiación	Financiación obtenida
IV	2011	Preparación del material/medicación	Documento de recepción de material/medicación en los centros
IV	2012	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
IV	2013	Inclusión Análisis intermedio de resultados	
IV	2014	Continuación de la inclusión	Documento de análisis intermedio
IV	2015	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
IV	2015	Fin de seguimiento	Documento de fin del seguimiento y cierre del estudio
V	2015	Elaboración de la base de datos	Base datos
V	2015	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
VI	2015	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VII	2016	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar
VIII	Semestrales	Reuniones para modificar las recomendaciones clínicas	Modificación de guías clínicas

3.3. Línea de infección bacteriana

Proyecto 8: Mecanismos patogénicos de las alteraciones del sistema inmune/inflamatorio en la cirrosis experimental: consecuencias fisiopatológicas de la traslocación bacteriana y modulación terapéutica.

Antecedentes: En la cirrosis existe una activación del sistema inmune/inflamatorio que pudiera contribuir al deterioro hemodinámico, a la fibrogénesis hepática y al propio agotamiento del sistema inmune de la respuesta efectora del sistema inmune. Se desconoce la patocronia de este estado inflamatorio y el origen de las células inflamatorias activadas. Además, la cirrosis se caracteriza por una alta tasa de traslocación bacteriana intestinal, que predispone a la infección bacteriana, desconociéndose si a su patogenia contribuye un defecto del sistema inmune intestinal.

Objetivo: Investigar los mecanismos patogénicos responsables de las alteraciones del sistema inmunitario/inflamatorio intestinal en la cirrosis experimental, y su contribución a la traslocación bacteriana intestinal.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Ramón y Cajal (centro coordinador), Hospital General de Alicante.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Complementariedad y diversidad de las técnicas experimentales de los grupos.

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III.

Desarrollo del estudio:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2013	Diseño del estudio y elaboración de protocolos	Protocolo
I	2013	Valoración del protocolo por el Comité de Experimentación Animal	Obtención de la aprobación
II	2014	Caracterización fenotípica de las células inmunitarias de la pared intestinal en cirrosis	Informe
II	2014	Contribución de la traslocación bacteriana intestinal	Informe
III	2014	Comunicación de resultados	Comunicaciones en congresos
IV	2015	Elaboración del manuscrito	Publicación

Proyecto asociado 8.1:

El objetivo general del proyecto 8 es conocer los mecanismos patogénicos de las alteraciones del sistema inmune/inflamatorio en la cirrosis experimental. Para alcanzar este objetivo al proyecto 6 se le asocia un subproyecto cuyo objetivo es modular mediante ácido obeticólico la inflamación intestinal y la disbiosis en ratas con cirrosis experimental

Proyecto 9: Efectos de la administración de rifaximina en pacientes con hepatitis alcohólica aguda grave. Estudio piloto comparativo.

En pacientes con un elevado consumo de alcohol puede desarrollarse una hepatitis alcohólica aguda (HAA), que suele aparecer en pacientes con hepatopatía crónica subyacente. La HAA se caracteriza por un proceso de inflamación hepática y el desarrollo de insuficiencia hepática que se acompaña una tasa de mortalidad global a corto plazo de aproximadamente 25-30%. Se ha observado una incidencia de infecciones del 50% durante el primer mes posterior al diagnóstico de HAA. El desarrollo de infecciones en estos pacientes esta determinado en gran parte por la respuesta al tratamiento. La rifaximina es un antibiótico derivado de la rifamicina, que muestra una absorción desdeñable después de la administración oral. Rifaximina cuenta con un gran espectro de actividad antimicrobiana contra micro-organismos gram-positivos y gram-negativos aerobios y anaerobios del tubo digestivo. En la actualidad se desconoce la eficacia de la descontaminación intestinal con rifaximina como tratamiento adyuvante de pacientes con HAA. No obstante los datos disponibles muestran que es un fármaco seguro en administración a largo plazo en pacientes con insuficiencia hepática y hay datos para suponer que pueda disminuir las infecciones bacterianas en pacientes que presentan HAA.

Objetivo: Investigar los beneficios de la rifaximina en la hepatitis alcohólica.

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital Vall Hebron (centro coordinador), Hospital Sant Pau, Hospital Clinic, Hospital del Mar, Hospital Can Ruti.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Complementariedad y diversidad de las técnicas experimentales de los grupos.

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III.

Desarrollo del estudio:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2012	Diseño del estudio y elaboración de protocolos	Protocolo
I	2012	Valoración CEICs y AEMPs	Obtención de la aprobación
II	2013	Inicio del estudio	Informe
III	2014	Inclusión	Informe

III	2015	Continuación de la inclusión	Informe
III	2015	Fin del estudio clínico	Informe
IV	2016	Análisis de datos	Publicación
V	2016	Estudio de mecanismos inflamatorios participantes	Informe
VI	2016	Elaboración de manuscrito	Publicación

3.4. Línea de encefalopatía hepática

Proyecto 10: Prevención de la encefalopatía hepática con ornitina-fenilacetato: estudio multicéntrico, aleatorizado, doble-ciego. Estudio OP-GIB

Antecedentes: La ornitina-fenilacetato es un fármaco que disminuye el amoníaco plasmático y que en modelos experimentales resulta útil para prevenir la hiperamonemia que sigue a la hemorragia digestiva.

Objetivo: Estudiar la eficacia de la administración de ornitina-fenilacetato para prevenir la encefalopatía hepática en pacientes con cirrosis hepática que presentan un episodio de hemorragia digestiva.

Centros CIBER-EHD: Hospital Valle de Hebrón (centro coordinador), Hospital San Pablo, Hospital Clinic.

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2011	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2011	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación (aprobación AEMPS septiembre 2011)
III	2011	Solicitud de financiación	Financiación obtenida (obtención beca TRA-190)
IV	2012	Preparación del	Documento de recepción de

		material/medicación (material recibido)	material/medicación en los centros
IV	2012	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
V	2012	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
V	2012	Conclusión de la inclusión parte A	Documento de fin de la inclusión
VI	2013	Inicio de la inclusión parte B	Documento de recepción material
VI	2014	Finalizar la inclusión parte B	
VII	2015	Elaboración de la base de datos	Base datos
VII	2015	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
VIII	2015	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VIII	2015	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar

Proyecto 11. Estudio neurofisiológico de los pacientes con cirrosis hepática. Relación con las caídas accidentales.

Antecedentes: Los pacientes con cirrosis y encefalopatía hepática mínima tienen una mayor incidencia de caídas y de fracturas, que provocan un deterioro de su calidad de vida. Los mecanismos por lo que se producen estos fenómenos no se conocen.

Objetivo: Considerar otros factores diferentes de la EHM que puedan contribuir a que los pacientes cirróticos presenten caídas y conocer mejor los mecanismos neuropsicológicos y neurofisiológicos implicados en el mayor riesgo de caídas de estos enfermos.

Centros CIBERehd: Hospital Sant Pau (centro coordinador), Hospital Vall Hebron

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2010	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2011	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación (aprobación AEMPS septiembre 2011)
III	2011	Solicitud de financiación	Financiación obtenida (obtención beca TRA-190)
IV	2012	Preparación del material/medicación (material recibido)	Documento de recepción de material/medicación en los centros
IV	2012	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
V	2013	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
V	2014	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
VI	2014	Fin de seguimiento	Documento de fin del seguimiento y cierre del estudio
VII	2015	Elaboración de la base de datos	Base datos
VII	2015	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
VIII	2015	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VIII	2015	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar

Proyecto 12. Síndrome de fragilidad en pacientes con cirrosis.

Antecedentes: Los pacientes con cirrosis y encefalopatía hepática mínima tienen una mayor incidencia de caídas y de fracturas, que provocan un deterioro de su calidad de vida.

Objetivo: Estudiar la incidencia y factores patogénicos relacionados del síndrome de fragilidad en los pacientes con cirrosis

Centros CIBERehd: Hospital Sant Pau (centro coordinador), Hospital Vall Hebron

Necesidad de coordinación multicéntrica: Incremento del ritmo de reclutamiento

Fuentes cofinanciadoras: Instituto de Salud Carlos III

Desarrollo del proyecto:

Fase	Año de ejecución	Hitos	Entregables
I	2013	Escribir el protocolo	Protocolo
II	2013	Enviar a los Comités Éticos	Obtención de la aprobación (aprobación AEMPS septiembre 2011)
III	2014	Inicio de la inclusión	Documento de inicio de la inclusión
III	2014-15	Análisis intermedio de resultados	Documento de análisis intermedio
III	2015	Conclusión de la inclusión	Documento de fin de la inclusión
III	2015	Fin de seguimiento	Documento de fin del seguimiento y cierre del estudio
IV	2015	Elaboración de la base de datos	Base datos
IV	2015	Análisis final del estudio	Documento de análisis final del estudio
V	2016	Elaboración de resúmenes	Presentación de abstracts en congresos
VI	2016	Elaboración del manuscrito	Manuscrito enviado a publicar

Program 2: Viral Hepatitis

Coordinator: J.I. Esteban

Associate coordinators: X. Fornes, M. Romero

The changing epidemiology of viral hepatitis

The epidemiology of human viral hepatitis caused by enterically-transmitted – hepatitis A (HAV) and hepatitis E (HEV) viruses –and by percutaneous/sexually-transmitted agents – hepatitis B (HBV), hepatitis C (HCV) and hepatitis delta (HDV) viruses – is changing throughout the World. Nowadays, most of the acute viral hepatitis infections are caused by HAV and HEV, but the ones that cause a long-term chronic infection are HBV and HCV.

The incidence of acute hepatitis A has increased in endemic developing countries where sanitation improvement has shifted HAV infection from young children to susceptible older children and adults but, in most developed countries widespread implementation of HAV vaccination in young children has rendered international travel to highly endemic areas as the primary risk for unvaccinated young adults.

Hepatitis E is frequent in Central and South Asia, the Middle East and Northern Africa whereas most cases in developed countries have been related to international travel. However, autochthonous cases, sometimes associated with contact with domestic mammals such as pigs, have been reported from Europe, Australia and other countries and an unusually high seroprevalence of anti-HEV has been reported in some developed countries. Nowadays, Hepatitis E Virus (HEV) is responsible of most of the acute phase hepatitis in developed countries.

Hepatitis C virus (HCV) infection, is widely distributed, with an estimated worldwide prevalence of 2.3% of the general population (>160 million people). In Europe, the estimated median prevalence is 1.9%, (14 million people). The reality, however, is that, in contrast to the situation in the US, epidemiological data in Europe is, with some exceptions (Sweden, UK, The Netherlands and Germany) scarce and outdated. Nonetheless, it is known that, despite substantial changes in some epidemiological parameters (mostly, migrant population changes, disease transmission patterns and genotype distribution) that have occurred in Europe during the last 20 years, HCV continues to spread (despite the virtual eradication of transfusion-associated infections), mainly through the ongoing intravenous drug use (IDU) epidemic, immigration from endemic areas (Sub-Saharan and Eastern European countries), and the underestimated frequency of patient-to-patient transmission during health-care-related procedures. Furthermore, because of its indolent and asymptomatic nature, 75% or more of HCV-infected individuals in the EU and the US are unaware of their status. As a consequence, many HCV-infected patients are not diagnosed until significant liver fibrosis has evolved.

HBV infection, with or without HDV coinfection, remains an important health problem in the EU, despite the widespread use of a highly effective HBV vaccine, due to the inability of current treatment to eradicate infection, the immigration of undiagnosed/untreated HBV carriers from

resource-poor endemic countries, and the ongoing IDU epidemic. As for HCV, the classical distribution of HBV genotypes is rapidly changing. Since Chronic HBV infected patients should be treated for whole life the risk of acquiring resistance mutations is very high and the significant number of HBV-infected patients carrying nucleos(t)ide-resistant HBV strains selected through years of sequential analogue monotherapy has increased the number of new infections by multi-drug resistant isolates.

The above depicted epidemiological changes are continuously evolving and the real burden of incident and prevalent cases (and the associated costs in terms of prevention and treatment) remain largely unknown in Europe. There is an urgent need to:

- ***Reinforce the routine use of the existing data bases Ciberhep (HBV) and HepatiC (HCV), as tools for epidemiological surveillance and treatment evaluation efforts.***
- ***Establish long-lasting connections between Ciberhep and HepatiC and other existing database resources (such as German Hepnet and Virgil platforms) with the goal of developing European networks to reinforce existing surveillance efforts at a EU level***
- ***Implement RT-PCR and sequencing tests for molecular diagnosis of HEV infection to estimate incidence and prevalence of infection***

In order to generate timely updated and reliable epidemiological and clinical information which allow implementation of policies aimed at stopping the ongoing IDU-associated epidemic, decreasing health-care related nosocomial transmission and optimize health-care resource allocation at a European level.

The problems of chronic viral hepatitis B and C

Persistent HCV infection is a leading cause of chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma and the major indication for liver transplantation. Around 2.5% of the Spanish population, 1 million people are estimated to be HCV carriers, most of them unaware of their infection.

And yet, chronic hepatitis C is a curable disease. A 24-48-week regimen of pegylated interferon (Peg-IFN) and ribavirin results in sustained virologic response (SVR) in 75-80% of non-cirrhotic patients with HCV genotypes 2, 3, 5 and 6, and up to 70% for genotype 4. With that treatment, however, SVR rates for genotype 1 are lower than 45%. In addition, interferon-based treatment causes debilitating side effects (fatigue, irritability, depression, anaemia, and flu-like symptoms) which limit its effectiveness or simply preclude its use in those who need it more (i.e.: cirrhotic patients, HIV-infected, dialysis patients, transplant recipients), and require specialized and frequent monitoring, further increasing costs to the National Public Health care System.

Addition of a first-generation protease inhibitor (Telaprevir or Boceprevir) may increase genotype 1 SVR rate up to 70% but markedly increases side effects. In fact, at present, many infected individuals defer interferon-based treatment, waiting for more effective and tolerable interferon-free regimens.

This year 2014, two new inhibitors (Simeprevir, an NS3 inhibitor, and Sofosbuvir, an NS5B inhibitor) have been approved by the EMA to be used in combination with pegIFN and/or Rbv, with a cost of 25000€ for Simeprevir and 60000\$ for Sofosbuvir (Sovaldi). Several new DAAs are currently under different clinical trial and next year some of them will be approved, in multiple combinations, moving to pegIFN-free regimens at least for the more difficult to treat patients (cirrhotic, post-liver transplanted...). Identification and use of host and viral predictive factors of antiviral response are critical for designing the most cost-effective therapy.

With DAA-based strategies, treatment failure may be due to either insufficient viral suppression or inability to induce viral extinction (leading to selection of resistant mutants), or to side effects leading to premature treatment discontinuation. Since both are more frequent among patients with advanced disease, baseline predictive variables of treatment response should be identified to offer the most suitable personalized treatment. In this sense, HCV subtype has been identified as a key predictive factor of the efficacy of treatments based on Direct Antiviral Agents.

Detection of resistant mutations in untreated patients has been hampered by the insufficient sensitivity of classical sequencing methods. Although such limitation can be overcome through the use of high-throughput technologies such as massive ultra-deep pyrosequencing (UDPS), the question as to which is the threshold frequency at which resistant variants are clinically relevant still remains. This problem can be addressed with in vitro cell culture studies using infectious viral clones carrying resistant mutations in the presence of controlled combinations of inhibitors.

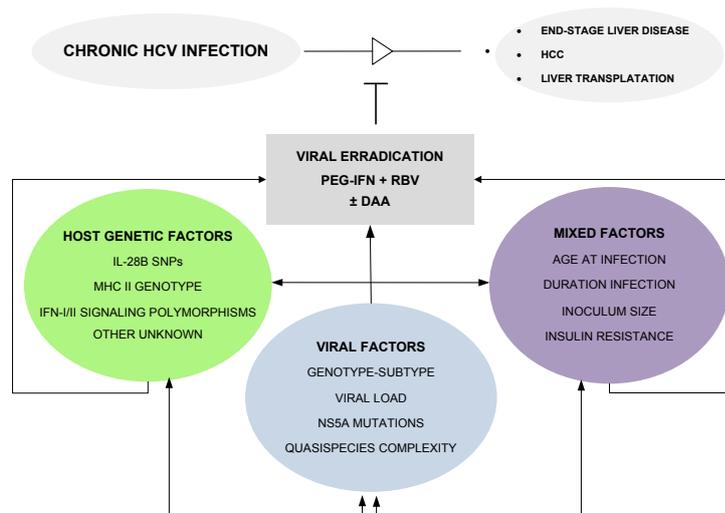
We are beginning to understand the complex viral-host interactions associated with both spontaneous recovery and response to interferon treatment and data is accumulating on mutations conferring resistance to a large number of second generation DAAs. The fact that ribavirin remains essential in HCV treatment with approved and investigational DAAs, requires an accurate explanation of its anti-viral activity. Hence, accurately predicting response to SOC and available DAAs in most patients will require to:

- ***Automate the High-resolution HCV subtyping method based in massive sequencing and phylogeny, to be implemented as a routine diagnostic tool.***
- ***Further identify all potential host and viral factors independently associated with recovery and treatment outcome.***
- ***Identify new SNPs, epigenetic changes, biomarkers and viral complexity values associated with treatment with combinations of DAAs w/wo pegIFN and/or Rbv.***
- ***Identify potential host and viral factors associated with faster progression to cirrhosis and increased risk of HCC***
- ***Understand the anti-viral mechanisms of ribavirin***

- **Study immune response associated with chronic HCV infection**
- **Determine the dynamics and fitness costs of mutations conferring resistance to new DAAs**
- **Automate the Method of Detection of Resistant Mutations based in massive sequencing, to be implemented as a routine diagnostic tool.**
- **Continue randomized, controlled trials to evaluate safety and efficacy of new-generation DAA-based strategies in treatment naïve and experienced patients with chronic hepatitis C**
- **Elucidate the dynamics and factors involved in HCV recurrence after liver transplantation**
- **Establish the optimal immunosuppressive regimen after liver transplantation for HCV-associated disease**
- **Design and conduct additional clinical trials with new-generation DAA-based strategies for treatment in special patient populations**
- **Design and propose clinical trials using new antiviral therapies (lethal mutagenesis) and new inhibitors)**

in order to achieve the final aim of designing cost-effective individualized treatment strategies for all subtypes and all patients at risk of end-stage liver disease, fibrosis progression in the liver graft and/or HCC.

Although the recent advent of ultra-deep massive parallel sequencing platforms (UDPS) will facilitate achieving this goal, the large number of variables (see figure below) and the bio-informatics challenge of this technique will require the combined effort of a large number of dedicated research groups.



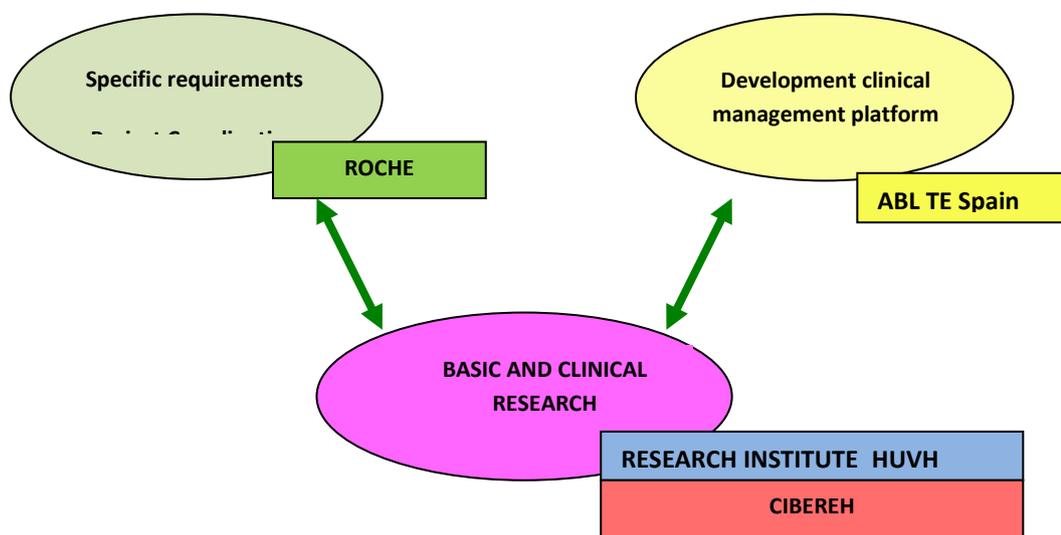
Although HBV is a DNA virus, it replicates by error-prone reverse transcription and, like HCV, can rapidly mutate to escape immune or drug pressure, but, in addition and unlike HCV, the viral DNA is released into the cellular nucleus where it is modified to create a circular extra-chromosomal molecule known as covalently-closed circular DNA (cccDNA) which serves as template for viral mRNAs including the pre-genomic RNA which is reverse transcribed back into DNA. Cytoplasmic capsids containing mature DNA can either be enveloped and released as infectious particles or can be transported back to the nucleus to replenish the “fail-safe” archival cccDNA pool. This unique feature, which allows the virus safe storage of resistant mutants, also allows random insertion of viral DNA into the host genome, a process irrelevant in the viral life cycle but a major factor in HBV-associated hepatocarcinogenesis. Longitudinal studies of untreated patients with chronic HBV infection indicate that, after diagnosis, the 5-year cumulative incidence of developing cirrhosis ranges from 8% to 20% and, when cirrhosis is established, the annual incidence of HBV-related HCC ranges from 2% to 5%. These heterogeneous outcomes have been associated with several viral factors, including HBV genotype, viral load and specific viral mutations. HBV is classified in at least 10 genotypes (A to J) and several subtypes, which in addition to different clinical outcomes, they have been associated with response to antiviral treatment, especially with interferon. There are currently 7 approved therapies for chronic HBV infection (2 interferons and 5 nucleos(t)ide analogs). Despite differences in potency and genetic barrier, all analogues target the RT domains of the DNA polymerase and suppress viral replication, but due to the long half-life of cccDNA and the tight control of its turnover, they fail to eradicate the virus in the vast majority of patients. Hence, the current goal of treatment is long-term suppression of viral replication in order to prevent cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma.

Several issues in chronic hepatitis B are incompletely understood, including the precise role of cccDNA in nucleos(t)ide analogue resistance, immune mechanisms involved in cccDNA clearance during resolution of acute HBV and molecular mechanisms involved in hepatocarcinogenesis. Improvement in the management of chronic hepatitis B will thus require to:

- ***Identify all potential host and viral factors independently associated with recovery, chronic disease outcome, hepatocarcinogenesis and response to treatment***
- ***Develop and Automated High-resolution HBV subtyping method based in massive sequencing and phylogeny, to be implemented as a routine diagnostic tool***
- ***Evaluate utility of HBsAg quantitation as a surrogate marker of cccDNA load***
- ***Develop a treatable cell line permissible to HBV infection***
- ***Investigate the HBV quasispecies, at the RT and overlapping HBsAg encoding genes, in patients with rapid vs slow vs no response to Tenofovir treatment***
- ***With the goal to select the optimal treatment in analogue-treatment-experienced HBV patients, To identify patients at higher risk of developing HCC and ideally design treatment strategies capable of clearing cccDNA to achieve permanent viral eradication***
- ***Investigate the role of HBxAg in the biology and clinical implications of HBV infection.***

1.- Introduction

The goal of the CIBEREHD Viral Hepatitis Program (CIBEREHD-VHP) in the last years has been to work in close collaboration to develop clinical tools based on massive parallel ultra-deep pyrosequencing (UDPS) as a complement to already available microarray technology for genome-wide association studies (GWAS). The result of this collaboration, has been the development of a three-year CDTI collaborative project (2010-2013) funded from the Spanish Ministry of Industry in 2011 (IDI-20110115) with CIBEREHD, the Vall d'Hebron Institut de Recerca Hospital Univ. Vall d'Hebron (VHIR-HUVH) and Roche Diagnostics S.L (RDS) and Advanced Biological Laboratories Therapyedge Spain, SL. (ABL TE Spain SL). The scientific Project included in the proposal has been monitored by the funding Agency and by a Committee in which all principal investigators of the CIBEREHD-VHP (along with the CEOs/Directors of the consortium) were represented. The main result of this project has been the development of a High-resolution HCV subtyping method that has been patented: PATENT Application number: EP13382278. Title: "Primers and methods for detecting Human Hepatitis C Virus (HCV) variants in an isolated sample", and has been translated into a routine laboratory for clinical diagnosis. Another result has been the development of an on-line clinical and virological database network to facilitate research collaboration between the CIBEREHD-VHP research groups. An updated version of the HCV data base (HepatiC), originally developed for the CDTI project, has recently been endorsed by the Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH) to gather information on new HCV treatment outcomes.



2.- Research groups

The CIBEREHD-VHP includes eight research groups whose principal investigators, research centres and descriptors are listed below in the table

No	Research Centre	Principal Investigator	Descriptor
1	Hospital Vall d'Hebron Barcelona	J I ESTEBAN	HCV infection
2	Hospital Vall d'Hebron Barcelona	R ESTEBAN	New treatments and molecular biology of HBV, HCV, HDV and HEV
3	Hospital Clínic Barcelona	X FORNS	Viral hepatitis in immunocompetent and liver transplant patients
4	Hospital Carlos III-LaPaz Madrid	J GARCÍA-SAMANIEGO	Viral hepatitis
5	IPB López Neyra CSIC Granada	J GÓMEZ	Viral hepatitis

6	Hospital De Valme	M ROMERO GOMEZ	Viral hepatitis
7	Hospital San Cecilio	J SALMERON	Parenterally transmitted liver diseases
8	Hospital La Princesa. Madrid	L.GARCÍA BUEY	Liver immunology and angiogenesis

Main research lines of the CIBEREHD viral hepatitis program groups

Hepatitis C virus

- Nationwide implementation of the **eradiC** project for HCV eradication in collaboration with the Spanish Association for the Study of the Liver (AEEH)
Coordinators: JI Esteban, J.Quer
Collaborating groups: All
- Unravelling the antiviral mechanisms of Ribavirin
Coordinators: J Salmeron, J Gomez, E Domingo
Collaborating groups: All
- Identification of key factors of antiviral immune response and exploring the potential for immunotherapy
Coordinators: JI Esteban, X Forns, L.García Buey
Collaborating groups: All
- Automate High-resolution HCV subtyping and detection of resistant mutations and translate into a routine diagnostic laboratory
Coordinators: J.Quer, F.Rodríguez-Frias
Collaborating groups: JI.Esteban, R.Esteban, X.Forns, J.Garcia-Samaniego
- Identify epigenetic markers associated to liver damage progression in HCV chronic infection
Coordinators: A. Madejon, J.A.del Campo, P.Sanz-Cameno
Collaborating groups: J.Garcia-Samaniego, L.García Buey, M.Romero-Gómezl
- Identify biomarkers associated to progression of liver disease
Coordinators: M-Romero-Gómez, L.García Buey, X.Forns,
Collaborating groups: All
- Identification of key host factors involved in spontaneous and treatment-mediated outcomes
Coordinators: J.A. del Campo, M. Romero Gomez, J.Salmeron
Collaborating groups: All

- Optimization of management and prevention/treatment of viral recurrence after liver transplantation
Collaborating groups: X Forns, L Castells, I Bilbao
- Development of new tools for the study of HCV life cycle in vitro
Coordinators: X Forns

Collaborating groups: L.García Buey
- New biotechnological diagnosis tools: Synthesis of core specific Aptamers
Coordinators: J Gómez, C.Briones

Collaborating groups: J.García-Samaniego, A.Madejon
- Cryo-EM characterization of wild-type HCV at low pH mimicking endosomal fusion
Coordinators: N Abrescia, S Pérez del Pulgar

Collaborating groups: X Forns (JM Mato)
- Role of apolipoproteins in HCV infection
Coordinators: P Majano, S Pérez del Pulgar

Collaborating groups: L.García Buey, X Forns
- Development of antiviral strategies using letal muthagenesis
Coordinators: E.Domingo

Collaborating groups: All
- Development of new antivirals (quercetine,...)
Coordinators: M-Romero-Gómez

Collaborating groups: All

Hepatitis B virus

- Development of a registry to study the clinical management of patients with chronic hepatitis B in Spain and the effectiveness of the most used antiviral treatment options for HBV named CiberHep
Coordinators: R. Esteban, M. Buti

Collaborating groups: All
- Development of optimized tests for early identification of analogue resistance mutations
Coordinators: J. Garcia Samaniego, F. Rodriguez-Frias

Collaborating groups: All
- Optimization of management and treatment of HBV and HDV infection in HIV infected patients
Coordinators: J Garcia-Samaniego

Collaborating groups: All

Chronic viral hepatitis (B,C,B/D)

- Optimization of bioinformatic tools for UDPS data interpretation
Coordinators: E. Domingo, Josep Gregori, J. Quer

Collaborating groups: All
- Identification viral and host factors influencing disease progression and development of HCC
Coordinators: X. Forns, L.García Buey

Collaborating groups: All
- Optimization of non-invasive liver fibrosis staging methods
Coordinators: X. Forns and M. Romero Gomez

Collaborating groups: All
- Development of a nationwide network for monitoring and prevention of mother-to-child transmission of hepatitis viruses
Coordinators: M^a A Ruiz-Extremera

Collaborating groups: All

Summary of the collaborative research projects from the CIBEREHD-VIRAL HEPATITIS PROGRAM (VHP) groups for 2015

PROJECT	CIBEREHD-VHP groups involved
eradiC Nationwide point-of-care HCV screening and “treatment as prevention and cure “	All
Automate a High-resolution HCV subtyping and detection of resistance mutations and translate into a routine diagnostic laboratory	All
Automate High-resolution HBV subtyping and detection of resistant mutations and translate into a routine diagnostic laboratory	All
Implementation of the Hepatitis C data base <i>HepatiC</i>	All

Detection of additional host genetic polymorphisms influencing treatment outcome in patients with chronic hepatitis B and C.	All
Identification of new potential therapeutic targets for the treatment of chronic hepatitis C based on data from genome-wide association studies (GWAS).	All
Study of hepatitis C virus in patients developing cholestatic hepatitis after liver transplantation by ultra-deep pyrosequencing.	X Forns & JI Esteban
Study of the effect of liver transplantation in the viral quasispecies using ultra-deep pyrosequencing	X Forns & JI Esteban
Analysis of NS3/4A protease inhibitor resistance variants in patients undergoing liver transplantation by ultra-deep pyrosequencing	X Forns & JI Esteban
Characterization of new cell lines for the study of HCV life cycle in vitro	X Forns, L.García Buey (J Bruix)
Development of a nationwide network for surveillance and prevention of vertical transmission of hepatitis viruses	MA Ruiz-Extremera & JI Esteban
Cryo-EM characterization of wild-type HCV at low pH mimicking endosomal fusion	X Forns, (JM Mato)
Role of apolipoproteins in HCV cell-to-cell transmission: an in vitro and in vivo study	X Forns & L.García Buey
Analysis of clinical impact of HCV subtyping errors: UDPS approach	X Forns & JI Esteban
Development of antiviral strategies using lethal mutagenesis	All
Development of new antivirals	All
Identify epigenetic markers associated to liver damage progression in HCV chronic infection	J.García-Samaniego, L.García Buey & M.Romero-Gómez

Identify biomarkers associated to progression of liver disease

M-
Romero-Gómez,
L.García Buey,
X.Forns

eradiC: Nationwide point-of-care concerted action for HCV screening and “treatment as prevention and cure “

PRINCIPAL INVESTIGATOR: J.I.ESTEBAN

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD-VHP.

Introduction

At present approved and about to be approved all DAA treatment regimens for HCV, have shown efficacy over 90% in virtually all patient groups. Accordingly, all necessary tools for HCV eradication on a large scale are at hand. These include rapid-screening test, anti-HCV drugs and providers will to treat everyone infected.

Briefly, we have designed a large, multicenter, comparative effectiveness research (CER), phase III trial to evaluate safety and efficacy of Abbvie’s DAA-regimens in real-world. The project incorporates all recommendations promoted by the Patient-Centered Outcomes Research Institute (PCORI), including:

- ✚ Partnered research (clinicians, patients, industry, health regulators and other stakeholders)
- ✚ Embedding research and integration within the working health-care system
- ✚ Addressing treatment outcomes with IFN-free strategies in a wide variety of population groups and practice settings.
- ✚ Evaluating long-term effects of HCV eradication with regards to associated comorbidities (metabolic syndrome, autoimmune conditions, hepatocellular carcinoma...) quality of life, well beyond primary endpoints.
- ✚ Optimizing duration and strategy of treatment for underevaluated groups (including cirrhotics)
- ✚ Simplifying interventions (from screening, evaluation, treatment delivery and monitoring) to increase efficiency and decrease costs.

Target population will include:

1. Reference hospitals
2. Primary care general population screening-treatment
3. Prison-based screening and treatment

Participating centers will include six reference hospitals in Spain with their corresponding primary care centers:

- Hospital Universitari Vall d'Hebrón (Barcelona)
- Hospital Clinic (Barcelona)
- Hospital de la Princesa (Madrid)
- Hospital Carlos III-La Paz (Madrid)
- Hospital de Valme (Sevilla)
- Hospital San Cecilio (Granada)

Objectives

1. Evaluate performance of screening and treatment strategies at primary care and estimate true prevalence of HCV infection
2. Evaluate performance of Abbvie's regimens in real-life as compared to that in registration trials
3. Increase screening and treatment uptake by general population and community IV drug users through treatment and peer-training in the prison setting

Patients and sample size estimate

Hospital

Because of its nature, the hospital trial has specific peculiarities, which, for the sake of simplicity, will also apply to primary care and prison settings. The most critical peculiarity is the diversity of patients. All industry-sponsored clinical trials establish inclusion and exclusion criteria according to the target population recruited. This cannot be done when the goal is eradication in hospital settings because many identified individuals might turn out non-eligible. Such situation would not only violate the no treatment-no screening premise, but would impose an additional burden no one can assume.

Hence, the only inclusion criteria should be acute or chronic active infection. Exclusion criteria should be restricted to established contraindication of study drugs or clinical decision on a case-by-case basis.

Under these criteria, the sample size for the hospital component will depend on the size and turnover of each center. No reliable estimate can be given for patients with previously unknown status. The estimated number of already known HCV-infected patients in outpatient clinics (Hepatology, Gastroenterology and Infectious diseases), including HIV-HCV co-infected patients, may reach 1500 at the largest center (Vall d'Hebron). We do not expect more than 500 new patients after a weeklong screening of emergency and hospitalized patients. Similar figures are likely at Hospital Clinic and probably lower in the remaining centers. Altogether, this arm would require 8000 patients for the six centers

Primary care screening and treatment

Each center will enroll 1000 patients from the general population with unknown HCV status. Patients cannot be diverted from hospital settings under any circumstance. To minimize the possibility of cross over, patients screening positive at primary sites or at occasional specific

screening sites, will be questioned regarding prior knowledge of status and medical records will be checked with the patient's consent before assigning trial arm.

Prison screening and treatment

Each center will enroll 600 HCV-infected inmates. This may not require additional screening. Catalan prisons have more than 10 years of active screening and treatment of inmates with outstanding efficiency. HCV-infection status is known in most if not all prisons in Spain. Penitentiary physicians should implement peer-candidate selection Screening of new inmates will be guaranteed.

Overall sample size

The number of patients enrolled will add up to 18000. Differences in resource-availability or understaffing preventing adequate enrollment at any site will be compensated by proportional increase in recruitment at companion sites as accorded.

Screening

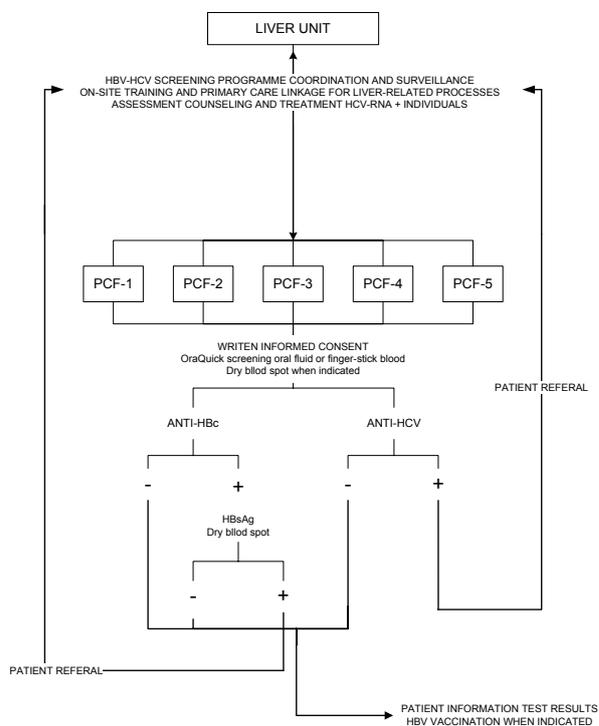
Screening will be implemented in collaboration with physicians, nurses, assistants and clerk staff at both hospital facilities and primary-care sites. Trained hospital-based clinicians will collaborate with colleagues at primary care centers

The OraQuick® HCV (OraSure Technologies Inc., Bethlehem, PA, USA), with analytical sensitivity and specificity comparable to those of standard laboratory tests and granted approval by FDA and EMA, will be used in saliva samples (or finger-stick blood/serum when appropriate).

Screening will always be offered with no coercion and no questioning on risk factor. Epidemiological questioning, often refrain at-risk individuals from screening uptake. The lack of knowledge on transmission mechanisms and the stigma associated with blood-borne infections, refrain many others with no risk factor. Informed written consent will be obtained in every case.

All patients will be directly informed of test results on-site or within 24 hours of sampling at patient's discretion according to results.

- Anti-HCV negative patients will receive acknowledgement for their collaboration
- Anti-HCV-positive test results will be re-tested on-site using the Ora-Quick on a finger-stick serum sample and a dried blood spot will be sent to the reference lab with for further serological and molecular tests. False positive results will be communicated as above
- Proven anti-HCV-positive patients will be seen within 72 hours by hospital-based or family physician at the primary care or hospital facility for:
 - Explanation of HCV antibody positivity in the absence of HCV RNA
 - Assessment, enrollment acceptance and treatment for those with detectable HCV RNA



Prevention and surveillance of nosocomial transmission

Before screening at hospital or primary care facility, Preventive Medicine Department personnel will ensure strict adherence to universal safety precautions through educational material, group meeting teaching, detailed evaluation of selected sites and on-site inspection and monitoring when required. The goal is to prevent hospital-acquired infections of any kind and ensure that adherence to standard precautions is maintained. No hospital can be declared HCV-free until the WHO officially declares the virus has been eradicated worldwide. Even in such event, implementation of universal safety precautions will remain mandatory.

Patient assessment

HCV-infected patients will be assessed for general health, liver disease stage (Fibroscan® and US or CT when indicated) and comorbidities. Complete blood tests will be obtained at baseline only except for patient subgroups participating in additional subordinate trials (see below), or when clinically indicated for patient care. Primary care patients with cirrhosis will be followed as outpatients for HCC screening at hospital-based outpatient clinic.

All positive patients will be fully informed of the study and requested to provide written informed consent to participate as required

Upon enrollment, patients will be evaluated for potential drug-drug interaction with study drugs. Both direct questioning and crosschecking of electronic prescription records will be used.

Treatment

Patients will receive treatment exclusively at primary care centers or hospital outpatient clinics. Direct supervision and help by authorized clinicians at every treating site will be ensured for the entire duration of the trial.

Treatment regimen and schedule to be agreed with Abbvie

Monitoring

Unless otherwise required on clinical grounds, treatment compliance and response monitoring will be simplified as much as possible. In addition to standard procedures for adequate study drug use and reporting, under surveillance by hospital-based pharmacy departments, blood sampling will be done at 4, 12 and 24 weeks for patients receiving 12-week regimens. Sampling frequency may vary as per manufacturer indication, clinical indication or subordinate study enrollment. Web-based access to FAQ automatic response, specific e-mail boxes and telephone contact numbers will be provided to all patients entering the trial. Clinical evaluation and study drug delivery will be done on a monthly basis in all cases during treatment.

In order to ensure sample quality and decrease waiting time and costs, all laboratory tests (at baseline and during and after treatment), will be performed at the local reference laboratory facilities and repository samples kept at supervised storage rooms at every referral center. Outside testing will be acceptable for quality control of test results but will not replace primary data. Any error will be reported and corrected as required by laboratory staff.

Data management

Anonymous screening test results (positive/negative) will be securely uploaded to the Spanish Association for the Study of the Liver-AEEH-run HCV-dedicated database HepatiC and site-aggregated results of primary care screening will be reported on a weekly basis at the AEEH website.

Routine electronic health records already in use at each participating center will also be used for enrolled patients throughout the study. To ensure protection of patient-level data and decrease costs, local CRO personnel will monitor participants. In all cases, patient-level data will be retained by participating clinical centers and shared only when formally requested in compliance with current regulation.

Automate a High-resolution HCV subtyping and detection of resistance mutations and translate into a routine diagnostic laboratory

PRINCIPAL INVESTIGATORs: JI Esteban, J.Quer

PARTICIPATING GROUPS

All groups of the CIBEREHD-VHP

CO-FINANCING SOURCES: FISSPI13/00456 and CIBEREHD STRATEGIC ACTION 2009

CONSORTIUM:

ROCHE DIAGNOSTICS, S.L., SPAIN: A. PALET, M. ÁLVAREZ-TEJADO,

ADVANCED BIOLOGICAL LABORATORIES SPAIN, S.L (ABL TE): C. SAYADA, D. GONZALEZ

CIBEREHD: J BOSCH

INSTITUT RECERCA VALL D'HEBRON: J. COMELLA

Background

We have developed a High-resolution HCV subtyping using 454/GS-Junior by NS5B phylogenetic classification that represents a high precision methodology for HCV subtyping and for quantification of mixed infections. The result can be further validated by direct inspection of the reads. Moreover, any future change in the classification can be easily corrected by re-subtyping the saved sequences/reads confronted to any new references.

Objectives:

- 1.- To adapt this method to detect minority resistance mutations in naive and also treatment experienced patients, before starting treatment, and also during treatment at the time of relapse of antiviral breakthrough to help clinicians to decide whether to stop antiviral treatment and to change to a new one in case of failure caused by resistance mutation selection.
- 2.- To adapt to HCV subtyping and detection of resistance mutations.
- 3.- To automate HCV and HBV subtyping to be used as a routine test.
- 4.- To automate HCV and HBV detection of resistance mutations to be used as a routine test.

Studies of variability and evolution in HBV treated patients

HBV INFECTION

PRINCIPAL INVESTIGATOR: R. Esteban, M. Buti, F. Rodríguez-Frías

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD-VHP

Background

The quasispecies structure of HBV, the high rate of viral production ($>10^{11}$ virions per day) and the “fail-safe” nuclear cccDNA archival strategy underlies both disease outcome and antiviral treatment resistance. Until recently, detection of minor mutant HBV genomes relied on expensive and time-consuming methods of cloning and Sanger sequencing which allowed analysis of a few number of samples. Resistant mutants are continuously generated during viral replication and become selected during analogue treatment well before viral breakthrough and treatment failure. In addition, resistance to some analogues, such as entecavir and tenofovir, requires a combination of nucleotide mutations in different RT/pol domains to restore fitness of viral variants, thus requiring high-throughput techniques capable of sequencing long fragments allowing mutation linkage to be detected. In this regard, the use massive parallel UDPS with in the GS-FLX 454-Roche platform should overcome most of these limitations and allow investigation of sequential samples in large number of patients.

Goals

Investigate HBV population complexity in different clinical situations.

Identify linkage of mutations (primary and compensatory), or mutant cooperation, associated with resistance to potent nucleos(t)ide analogues.

Unravel potential unknown viral factors interfering response to new drugs and represented as minor variants within a complex circulating quasispecies or within intra-hepatic cccDNA.

Investigate HBV quasispecies dynamics under drug pressure in replication-competent Huh 7.0 cell lines.

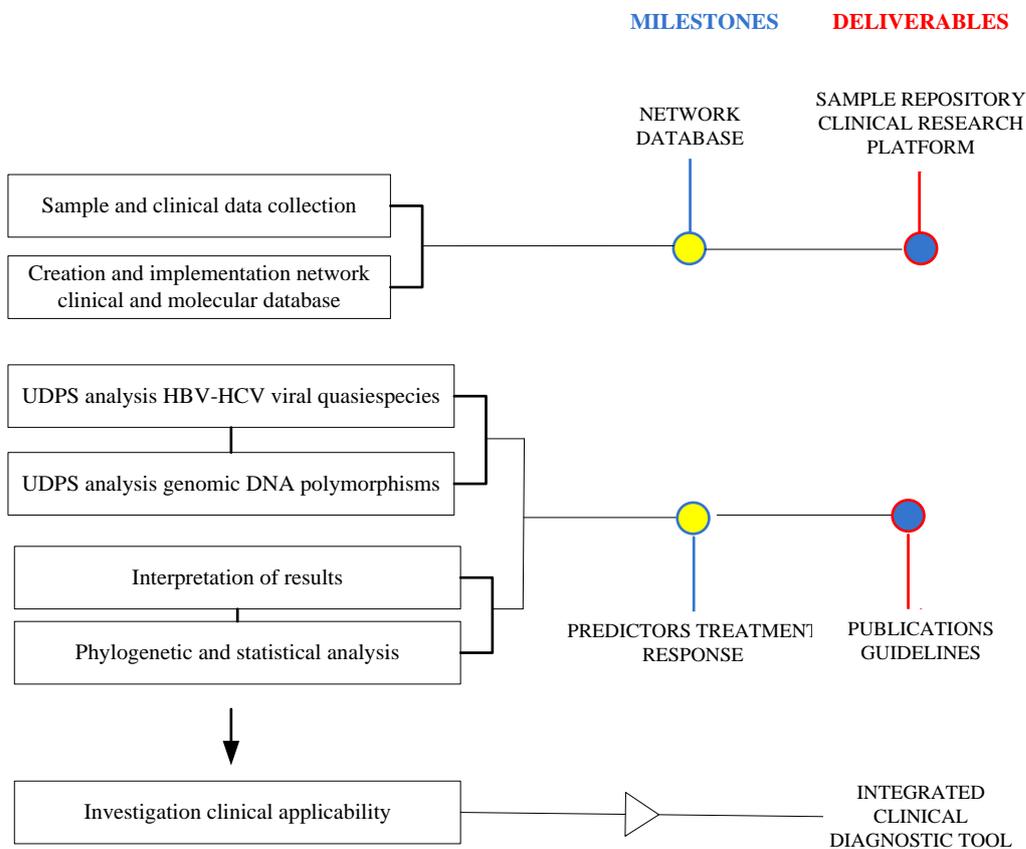
Identify highly conserved nucleotide positions in multi-drug resistant patients as potential targets for new antiviral drugs.

Design

This is a retrospective, cross-sectional study including 200 HBV-infected patients with spontaneous recovery (20) or chronic hepatitis B, untreated (10) or treated with Pegylated-IFN α 2 or nucleos(t)ide analogue sequential monotherapy, add-on therapy or monotherapy with potent-high-genetic barrier analogues with diverse viral suppression kinetics. Stored sequential sera and liver tissue will be available from all patients as well as clinical, biochemical and virological data from long-term follow-up. Blood and tissue samples will have to be obtained in every case through approval of the local Ethics Committee and additional written informed consent will be required for genomic DNA studies conducted in the current study. HBV genotypes A and D (the most frequent in our area) will predominate but other imported genotypes will also be included.

HBV quasispecies will be studied both in serum and liver tissue to explore whether cccDNA sequences harbour minor mutants of clinical relevance undetectable in circulating virus. Significance of minor variants will be further investigated in tissue culture.

As in the case of HCV, the project, already supported by a clinical database platform (CIBER-HEP), will also use the infrastructure and software provided and developed by ABL-TE Spain SL, to expand the translational research network capability of the CIBERHEP with the intention to facilitate collaborative research among groups of the CIBEREHD-VHP and to serve as a launching pad for a nation-wide viral hepatitis network which could finally establish further links with other similar existing initiatives in EU and other countries.



Development of a diagnostic test for HBV genotyping based on GS-Junior platform of massive sequencing

PRINCIPAL INVESTIGATOR: F-Rodríguez-Frias

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD-VHP

FINANCING SOURCES: ROCHE DIAGNOSTICS CDTI project. STRATEGIC ACTION 2009

CDTI project in Consortium:

ROCHE DIAGNOSTICS, S.L., SPAIN: A. Palet, M. Álvarez-Tejado,

ADVANCED BIOLOGICAL LABORATORIES SPAIN, S.L (ABL TE): C. Sayada, D. González

CIBEREHD: J Bosch

VALL D'HEBRON INSTITUT de RECERCA: J. Comella

CO-FINANCING SOURCES: FIS12/01893, FIS PI11/01973

HBV has been classified into 10 genotypes (A-J) based on nucleotide differences of >8% between one each other. Genotypes are geographically distributed around the world, and in our geographic area, those with the highest prevalence are A and D. Genotyping is important since it has been correlated with differential outcome of infection and antiviral response. In general, patients infected with genotype A have better prognostic evolution and higher percentage of interferon response than patients infected with genotype D. Therefore, it has been proposed that genotype together with demographic factors such as age, viral load, ALT levels and the HBeAg/anti HBe stage have been used as a criterion to treat patients with gamma-IFN.

The development of a fast and reliable test for HBV genotyping in samples from chronic hepatitis B patients before treatment may be very useful in clinical practice.

Genotyping by massive sequencing analysis (GS-Junior platform) allows exact classification of virus and it also allows detection of multiple infection in one patient with different genotypes, or either from different populations of the same genotype. Massive sequencing will allow detection of minority resistant mutants to the antiviral treatments. In this sense genotype G have been only described as a coinfection with genotype A, and the distribution of such genotype has not been clearly established, probably by the difficulty of current technologies to study this kind of coinfections.

Objectives:

- 1.- To adapt a high-resolution HBV subtyping method based on massive sequencing and phylogeny, as performed for HCV.
- 2.- To adapt a high-resolution HBV method to detect anti-HBV resistance mutations.
- 3.- To automate HBV subtyping as a routine test.
- 4.- To automate HBV detection of resistance mutations as a routine use.

Pharmacogenomics in triple therapy: Genome Wide Association Study (GWAS) in Hepatitis C patients treated with peginterferon + ribavirin + protease inhibitor: Safety and Efficacy.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Manuel Romero-Gómez

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD – Viral hepatitis program

CO-FINANCING SOURCES:

Background

The natural course of chronic HCV infection is characterized by high levels of interindividual variation in disease progression. Polymorphisms in *IL28B* were shown to affect clearance of hepatitis C virus (HCV) infection in genome-wide association (GWAS) studies. There is accumulating evidence to suggest that other host genetic factors are involved, although these factors remain largely unknown. GWAS provide a broader and unbiased approach for the discovery of genetic factors involved in disease susceptibility. In this study, we will perform a 2-stage GWAS study (primary screen followed by a replication study) in a combined cohort of 1000 well-characterized HCV-infected patients under triple therapy (PEGIFN+RBV+PI) to identify genetic factors influencing adverse events and treatment outcome.

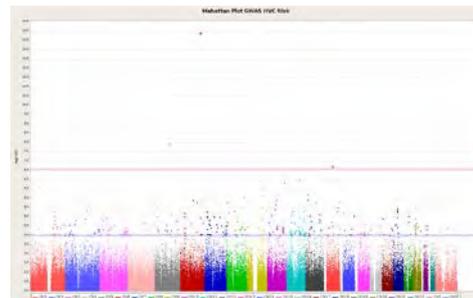
Patients & Methods

1000 patients with chronic hepatitis C genotype 1 treated with peginterferon + ribavirin + PI from several Spanish hospitals (different groups from CIBERehd). All patients will sign informed consent that will reflect analytical and epidemiological data and 10 ml of whole blood will be drawn for genetic study.

Genotyping and Quality controls

Primary cohort will be genotyped for ~1,000,000 SNPs using Illumina human 1M-Duo BeadChips. Genotype calling and quality control filters will be applied in the estimation and validation cohorts independently. Genotype calling will be performed with the default settings of the BeadStudio software (Illumina). For genetic markers, SNPs with (1) a genotype clustering score will be discarded (ie, the Illumina GenTrain score, which quantifies for a given SNP the quality of clustering of samples in 3 separate genotypes) <0.2, (2) a call rate <90%, (3) a minor allele frequency (MAF) <1%, and (4) a Hardy–Weinberg P value <10⁻⁷.

The aim of this study is the identification of genetic signals associated to hepatitis C progression and the achievement of sustained viral response in patients with triple therapy. On the other hand, a miRNAs based screening will be performed in order to identify key miRNAs involved in treatment outcome and side effects.



Hepatocellular carcinoma (HCC) associated to chronic Hepatitis C: nanomedicine approach in metformin therapy.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Manuel Romero-Gómez

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD – Viral hepatitis program

CO-FINANCING SOURCES:

Background

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common cancer and the third leading cause of cancer-related deaths in the world. Hepatitis C virus (HCV) is a leading cause of chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Abnormalities in glucose and lipid metabolism associated with insulin resistance and the metabolic syndrome have been identified in patients with hepatitis C as a risk factor for hepatocellular carcinoma. Metformin is an insulin-sensitizer drug used as first-line oral treatment for T2DM patients. Recent studies indicate that metformin showed antioxidant, anti-inflammatory, growth inhibitory and antiangiogenic effects, reducing the risk of some solid tumors, such as prostate, colorectal cancer, breast and pancreas. In patients with cirrhosis C metformin seems to be able to decrease hepatocellular carcinoma risk. The application of nanotechnology in oncology is revolutionizing the possibilities of chemotherapy, radiotherapy, immunodetection, image, thermotherapy, etc. Nanomedicine is the best and almost the only strategy to deliver high loads of metformin into a specific tissue.

This project will elucidate the molecular links between HCV infection and hepatocellular carcinoma development through different complementary approaches, using *in vitro* and *in vivo* studies and a clinical trial.

Patients and Methods

Molecular studies in infected Huh 7.5 cells together with metabolomics analysis which involves a global unbiased survey of the set of small molecules (the metabolome) found in a tissue or biofluid. Metabolomics utilizes high-end analytical chemistry platforms. The recent development of ultraperformance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-QTOFMS) has transformed the ability to generate and determine the accurate mass of thousands of components in a complex mixture such as plasma or urine. This technology, combined with various multivariate data analysis software packages and machine learning algorithms, has created a modern set of tools of unprecedented power for the mining of metabolomic biomarkers of disease. *In vivo* experiments will include C57Bl/J mice as an experimental model. Nanoparticles (300 nm diameter) of metformin expressing a vector to be re-directed to hepatocyte would be tested both *in vitro* (cell cultures) and *in vivo* (mouse)

models. These particles (chitosan) will be produced through ionic gelation together with metformin solution.

This project will perform a multicenter double-blinded placebo-controlled and randomized clinical trial insulin sensitizer (metformin) in HCV-related cirrhosis patients showing insulin resistance or diabetes mellitus as prophylactic therapy for liver cancer. Nanoparticles (300 nm diameter) of metformin targeting liver tissue would be tested both *in vitro* and *in vivo*. After efficacy and safety analysis we will move to therapy for liver cancer in patients with hepatitis C using nanomedicine.

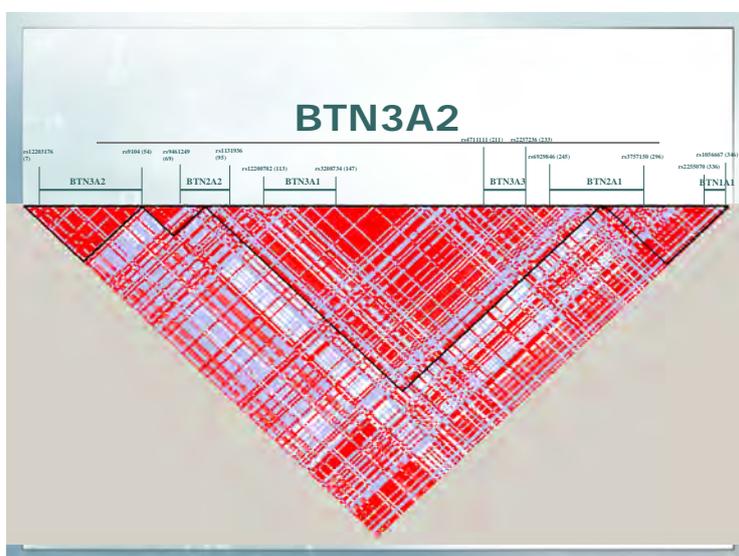
BTN3A2 and other candidates gene deep analysis involved in host-viral interactions in HCV infection.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Manuel Romero Gómez

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD – Viral hepatitis program

CO-FINANCING SOURCES:

Previous work demonstrated that specific SNPs are involved in genotype-dependent HCV infection. A polymorphism in *BTN3A2* gene has been identified in this host-viral interaction involved in genotype selection. Another polymorphism in the *KLF12* gene has been found to be associated to anemia development. A validation study and deep gene analysis (as shown in figure) is needed for further confirmation of these signals.



ROLE OF LIPID DROPLETS (LDs) ON HCV INFECTION AND STEATOSIS DEVELOPMENT. ANALYSIS *in vitro*.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Manuel Romero Gómez

PARTICIPATING GROUPS: All groups of the CIBEREHD – Viral hepatitis program and University of Geneva (Prof. Francesco Negro)

CO-FINANCING SOURCES:

HCV life cycle is tightly associated with lipid metabolism, critically HCV dependent on host lipid metabolism for its proliferation. Lipidomic analysis during acute HCV infection identified temporal fluctuations in specific lipid species (phospholipids and sphingomyelins) that play roles in viral replication, viral morphogenesis/assembly and secretion. HCV is shown to deregulate lipid homeostasis by modulating key players, resulting in increased lipogenesis (lipid uptake) and reduced β -oxidation, creating a lipid-rich microenvironment conducive to viral proliferation. To address how HCV-lipid interactions may be related with steatosis development and vice versa, we initially focused our attention on the role of lipid droplets (LD) in these processes, since steatosis may be defined as the appearance of very large, neutral fat-rich LD in the hepatocyte cytoplasm. HCV life cycle may be affected by i) total area of the surface of LD per cell, ii) total fat content stored in LD or iii) the lipid qualitative changes of LDs.

Our working hypothesis is the LD can be used to study the cellular pathway activated during viral infection to identify major or minor lipid species that may play a significant role in HCV life cycle and possibly pathogenesis.

Study of hepatitis C virus superinfection after liver transplantation by ultra-deep pyrosequencing.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: J Quer

PARTICIPATING GROUPS: JI Esteban and X Forn

CO-FINANCING SOURCES: CIBEREHD STRATEGIC ACTION 2009

Hepatitis C virus (HCV) chronic infection is the leading indication of liver transplantation (LT). Several studies have reported no differences in outcomes with the use of HCV-positive grafts in comparison with the use of non-infected ones. The limitation of organ supply has conducted to

the transplantation of HCV-infected grafts to HCV-infected recipients when both were infected with the same genotype. In these particular cases, superinfection (defined as infection with a different HCV virus to an individual already infected with HCV) with two different viral populations occur, and leads to the dominance of one strain over the other. Early viral kinetics of HCV derived from donor and/or recipient during superinfection has been previously studied by conventional sequencing and cloning, using a limited number of clones.

The aim of this study is to analyze the evolution of superinfecting viral populations during liver LT by means of ultra-deep pyrosequencing (UDPS) using 454 GS-FLX platform. To this aim, we have included 6 HCV-infected patients who underwent LT with HCV-infected grafts. We collected serum samples before LT (donor and recipient) and after LT (days 1 and 2, week 1, and months 4, 6 and 12). All serum samples are being analyzed by UDPS. Viral complexity will be measured by the mutation frequency and genetic diversity.

Successive expansions and contractions of quasispecies were observed, evolving in all cases towards a more homogeneous population, with a relatively low genetic variability. In patients 1, 3 and 5, the donor population outcompeted the recipient virus immediately after LT (day1), whereas in cases 2, 4 and 6, the recipient virus overtook the donor's. In all cases, the most complex viral population excluded the other and became dominant. In cases 1, 2, 4 and 6, minority mutants derived from the donor or the recipient were detected at various points after LT regardless of the final result of the in vivo competition. Interestingly, in case 2, viral coexistence lasted even after the first year after LT.

During 2014 we will finish a comprehensive quasispecies analysis to delineate very accurately HCV the evolution of superinfection after LT.

Study of the effect of liver transplantation in the viral quasispecies using ultra-deep pyrosequencing

PRINCIPAL INVESTIGATOR: X Forns and J Quer

PARTICIPATING GROUPS

Jl Esteban and X Forns

CO-FINANCING SOURCES: PI11/01907, Roche Transplant Research Foundation CI-442035037, CIBEREHD STRATEGIC ACTION 2009

HCV replication is associated with a high rate of nucleotide mutations, which explains that in infected individuals, HCV circulates as a mixture of closely related but distinct genomes (quasispecies). The quasispecies nature of HCV has been implicated in viral persistence, and, indeed, genetic evolution of the virus might permit HCV to escape the host immune surveillance. LT is a unique opportunity to study HCV genetic evolution, since a circulating viral quasispecies that is in dynamic equilibrium, requires a quick adaptation to a situation derived from the removal of the main source of virus production (the liver) and the implantation of an uninfected graft. To propagate, circulating virions need to attach and enter into hepatocytes, the first step of the HCV life cycle. These events will most likely result in the selection of certain viral variants and, therefore, in significant changes in the quasispecies composition. It is obvious that studying genetic evolution in this setting is complex, since infection occurs in an environment of already established immune responses against the virus but also under strong immunosuppression.

The aim of our study is to analyze the genetic evolution of the HCV quasispecies after liver transplantation. In particular, we will study the adaptative mutations occurring in the E2 envelope glycoprotein after the bottleneck effect of LT in samples obtained immediately before and after LT by UDPS.

Characterization of new cell lines for the study of HCV life cycle in vitro

PRINCIPAL INVESTIGATOR: X Forns

PARTICIPATING GROUPS

L.García Buey , (J Bruix)

CO-FINANCING SOURCES: PI10/01551, PI11/01907, Roche Transplant Research Foundation CI-442035037, CIBEREHD STRATEGIC ACTION 2009

Efforts to study the molecular biology of the hepatitis C virus (HCV) have been hindered by the lack of a suitable animal model and by the fact that the HCV cell culture is almost entirely restricted to the JFH-1 isolate and the human hepatoma cell line Huh7. Since hepatocytes are the main site of viral replication in vivo, and in order to expand the host cell lines to study HCV infection in vitro, we have screened a series of cell lines derived from human malignant hepatocytes for their ability to support HCV infection and replication.

In collaboration with the Hepatic Oncology group led by Dr. Jordi Bruix at Hospital Clínic, we have characterized 8 human cell lines (BCLC-1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 and 10) derived from resected hepatocellular carcinoma (HCC). HCV receptor expression was determined by Western blot and immunofluorescence. HCV entry was assessed using HCV pseudoparticles (HCVpp). Replication studies were performed using the JFH1 subgenomic replicon.

Cell line code	Sex / Age (yr)	Underlying disease	Tumor size (cm)	Cell morphology	Adherence to substrate
BCLC-1	M / 76	HCV / liver cirrhosis	1.8	Epithelial	+
BCLC-2	M / 60	HCV / liver cirrhosis	5	Epithelial	+
BCLC-3	M / 67	HCV / liver cirrhosis	2.5	Epithelial	+
BCLC-4	F / 68	HCV / liver cirrhosis	3	Epithelial	+
BCLC-5	F / 48	HCV / liver cirrhosis	4	Epithelial	+
BCLC-6	M / 69	Alcohol / liver cirrhosis	5.6	Epithelial	+
BCLC-9	F / 70	HBV / healthy liver	5	Spherical	Adherent and cell suspension
BCLC-10	M / 51	HBV / chronic hepatitis	5	Epithelial	+

Table1. Tumor origin and cell morphology of the BCLC cell lines.

Western blot analysis revealed that all of the BCLC cell lines expressed the HCV entry receptors CD81 and SR-BI, as well as the tight-junction proteins claudin-1 and occludin. Immunofluorescence studies showed that HCV receptors were localized in the plasma membrane, with minimal or no intracellular staining. In addition, all BCLC cells, except for BCLC-9, were highly permissive for HCVpp entry at levels comparable to Huh7.5 cells. HCVpp infection was inhibited by neutralizing antibodies targeting either the HCV entry receptors claudin-1, SR-BI, and CD81, or the E2 envelope glycoprotein. None of the BCLC cells supported short-term transient replication of the JFH1 subgenomic replicon carrying a luciferase reporter gene. However, BCLC-1 and BCLC-5 cells supported HCV replication upon electroporation with a subgenomic replicon containing a selectable marker gene (neo) and selection with G418.

Since BCLC-1 and BCLC-5 are capable of supporting subgenomic HCV RNA replication over the long term, we think that they offer a useful tool for the study of HCV infection in vitro. For this reason, the aims for 2014 are:

1. To generate new cell lines derived for the study of HCV life cycle in vitro.
2. To study host cell factors important for HCV replication: innate immunity, mir122 and apoE.
3. Identification of clinically used drugs with antiviral activity against HCV

The 3rd aim will also be performed in collaboration with Dr. Pablo Gastaminza from the Centro Nacional de Biotecnología (CNB, Madrid).

Identification of treatment-resistant HCV variants against telaprevir or boceprevir therapy by using cold-PCR technique. Application in monitoring antiviral response.

HCV INFECTION

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Javier García-Samaniego

PARTICIPANT GROUPS: E. Domingo

FINANCING SOURCES: FISS PI12/02146

Background

Protease inhibitors (PIs)-based triple therapy improve sustained virological response (SVR) in patients with genotype 1 chronic hepatitis C. However, the composition of HCV quasispecies, could influence the treatment response. About 15-20 % of the patients are non responders to the triple therapy possibly due to a low interferon sensitivity, selection of resistant variants or low compliance of therapeutic regimen. The complexity of the HCV population has been related with the interferon sensitivity. The analysis of the quasispecies variability level and the identification in this context of treatment resistant variants are factors to be considered for the monitoring of the viral response in the case of the patients who initiate the triple therapy. As we still do not dispose of any commercial system to identify therapy resistant mutant variants, such analysis must be realized using molecular biology techniques, as ultra-deep sequencing, which is expensive, time consumer and require highly specialized personal. For the previously presented reasons, an adequate strategy is required. Among the intermediate sensitivity level techniques, we would like to emphasize COLD-PCR, which allows a substantial increase (100-1000 times) in the sensitivity of the detection of nucleic acids minority species, regarding to the standard amplification, using a low melting temperature.

Objectives.

The aim of this project is to analyze the variability and emergence of minor HCV variants associated with treatment resistance in plasma of patients receiving triple therapy with interferon, ribavirin, and one of the approved HCV protease inhibitors (telaprevir or boceprevir), and to study their usefulness in monitoring antiviral response. We will perform a prospective, observational study including all patients at the Hepatology Unit of Hospital Carlos III which fulfill the criteria for access to triple therapy recommended by the Spanish Agency for Medicines and Health Products: infection with HCV genotype 1, compensated liver disease (Child-Pugh A), and fibrosis \geq F2. For sequence analysis we will optimize the cold-PCR technique, which allows the identification, with high sensitivity, of minor variants in complex mixtures of nucleic acids, in a more simple and

potentially applicable to clinical practice way than the pyrosequencing technique. Plasma samples will be taken at critical points of monitoring response to treatment (baseline and weeks 4, 8, 12, 24 and 48 of treatment). All samples will be analyzed using cold-PCR and sequencing of the core and HCV NS3/proteasa coding regions. Finally, we will analyze the correlation between the level of genetic variability of each region with the patterns of response to treatment of each patient, and the level of resistance in vitro of variants most significant variants.

Preliminary results.

The analysis of the first 42 patients included in this work, showed that the complexity of the baseline HCV populations, as analyzed by cold-PCR, seems to be related with treatment failure, both by stopping rules or BKT. This finding may be due to a better option of adaptation to the antiviral pressure in the more complex viral populations.

Briefly, thirty (71%) patients achieved rapid virological response (RVR). Two patients (5%: 1 TVR and 1 BOC) stopped the treatment by lack of response at week 4 (stopping rule), and other 2 TVR patients showed BKT at week 8 and 36 respectively. The baseline viral complexity tended to be higher in the 4 non-responders than in responders [variability (%) (mean + SD; range): 16.3 + 3.2 (14-17) vs 4.3 + 1.2 (2-6); p=0.07]. The emergent viral populations in the 2 BKT cases were homogeneous (100% homology in each patient). The 4 patients with treatment failure had advanced fibrosis (F3/F4: 1/3) and 75% of them had HCV-1b subtype. No correlation with IL28B polymorphism was observed (1 CC, 2 CT and 1 TT).

Analysis of differential kinetics of HCV-RNA clearance in plasma and PBMCs from patients undergoing IFN-free treatment.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Javier García-Samaniego

PARTICIPANT GROUPS: E. Domingo, JI Esteban, M. Bes, L. García-Buey

Background.

The confirmation of serum HCV-RNA undetectability in several critical points during treatment (weeks 4, 12 and 24) is crucial for monitoring antiviral response in patients with chronic hepatitis C (CHC) treated with pegIFN + ribavirin + telaprevir. Thus, persistence of serum HCV-RNA negativity after telaprevir (TVR)-based therapy during 12-24 months is considered as an indicator of HCV eradication. Although at very low level frequency, long lasting HCV replication reactivation has been described in responder IPs-based therapy. The cause of these reactivation events is not clear. An important factor that could be taken into account is the existence of HCV extrahepatic reservoirs, as PBMCs. The presence of variants of the highly conserved 5' untranslated region

(UTR) has been observed between HCV from plasma and PBMCs, that suggesting a possible adaptation of HCV to replicate in nonhepatic cells. In addition, a compartmental distribution of HCV quasispecies and HCV genotypes has been demonstrated between plasma, liver and PBMCs. The lymphotropic nature of HCV and the independent replication of HCV in lymphoid cells may constitute a potential risk for persistence, reactivation, recurrence or treatment resistance. Future studies are required to improve our knowledge of the extrahepatic manifestations of HCV and its possible consequences. (Baré, 2009).

Objective.

The objective of this project is to compare the kinetics of HCV-RNA negativization in plasma and PBMCs of patients with CHC under telaprevir-based triple therapy, and more important the persistence of HCV-RNA sequences in PBMCs of patients who achieved SVR. For this purpose we have initiated a prospective, observational study including all patients attended in the Hepatology Unit from Hospital Carlos III which fulfill the criteria for access to triple therapy recommended by the Spanish Agency for Medicines and Health Products: infection with HCV genotype 1, compensated liver disease (Child-Pugh A), and fibrosis \geq F2. Serum HCV-RNA titres will be tested according the treatment protocol. HCV-RNA in PBMCs will be tested using an *in house* RT-nested PCR with a TaqMan probe at 4, 12, and 24 weeks after treatment in all patients.

Preliminary results.

Preliminary data, obtained in the development of this project, confirm the different kinetics of HCV evolution in PBMCs and plasma, and more significant, the finding that HCV-RNA remains positive in PBMCs of patients who achieved SVR12. Thus, serum HCV-RNA became negative at week 4 (RVR) in 11/15 (73%) patients, and at week 12 in 3 additional patients. By contrast, in PBMCs, HCV-RNA was more persistent and was detected in 11/15 (73%) patients at baseline, in 7/15 (47%) at week 4, in 4/14 (28%) at week 12. In two patients (14%) HCV-RNA was positive at the end of treatment (week 24) and remained positive when the SVR12 was confirmed, 32 weeks after negativity of serum HCV-RNA.

These data could reflect that HCV is not fully eradicated during treatment, and it may persist in extrahepatic reservoirs. The clinical significance of this finding, and its possible role in reactivation events should be investigated in this project.

Epigenetic mechanisms induced by hepatitis C virus; involvement in the evolution of fibrosis and development of hepatocellular carcinoma.

PRINCIPAL INVESTIGATORS: Javier García-Samaniego, Antonio Madejón

PARTICIPANT GROUPS: Esteban Domingo

Background.

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is one of the most important factors associated with the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC), and it is also the first indication for liver transplantation in Europe and in the U.S. The relationship between viral infection and epigenetic changes induction, related with basic cellular processes such as regulation of gene expression and which deregulation ???? may lead to the development of cirrhosis or liver cancer, is at the moment an interesting field not well known.

Objectives.

The aim of this project is to study the epigenetic changes induced in the host cell by HCV infection, to determine the molecular mechanisms implicated in this process, and finally, to study its clinical significance, in relation with fibrosis progression and neoplastic development.

Preliminary results.

The preliminary results obtained in this project confirm that HCV, using the HCVcc system, inhibits histone 3 phosphorylation in Serine 10 residue (H3Ser10ph), an epigenetic mark associated with transcriptional activation processes that acts as a mitosis marker. These results were confirmed in transient expression experiments using the core proteins isolated from HCV genotypes 1a, 1b and 2a. Interestingly, the Aurora B kinase inhibitor ZM443979 abolishes the effect of core protein on H3Ser10ph. To elucidate the pathway by which HCV down-regulates H3Ser10ph, we demonstrated that HCV core protein directly interacts with Aurora B decreasing its kinase activity without modifying either endogenous Aurora B gene transcription or protein expression. In addition, the decrease of Aurora B activity mediated by core protein down-regulates NF- κ B and Cox-2 gene transcription, two genes with anti-apoptotic and proliferative effects and implicated in the control of the inflammatory response. Aurora B over-expression in the HCVcc system reverted NF- κ B and Cox-2 gene transcription and decrease HCV infection. These data suggest that the decrease of Aurora B activity can play an important role in the inflammatory response during the initial steps of HCV infection. This mechanism might be an HCV strategy to ensure viral infectivity and dissemination.

Currently, we are testing the H3Ser10ph, and Aurorakinasasa B value as potential prognostic markers of fibrosis evolution. For this purpose, we are testing by in situ hybridization techniques, the expression level of AKB, and the level of H3ser10 phosphorylation in a collection of paraffined liver section obtained from patients with different fibrosis stages (F1-F4). In addition, we will test the value of plasmatic identification of these markers.

Genetic and epigenetic analysis of asymptomatic HBV carriers. Implications in the therapeutic decisions.

PRINCIPAL INVESTIGATORS: Antonio Madejón

PARTICIPANT GROUPS: HBV work groups

FINANCING SOURCES: Gilead S.A. (I Convocatoria de Proyectos de Investigación en VIH y Hepatitis).

Background.

The last generation of base analogs developed for the treatment of chronic hepatitis B (CHB), allows an efficient control of viral replication with good safety profiles. Tenofovir (TDF) has virological response rates, after five years of treatment, ranging from 97% -99% in HBeAg positive and negative patients, respectively. Treatment of CHB is indicated in patients with abnormal ALT, HBV-DNA levels higher than 2000 IU / ml), and necroinflammatory activity and / or mild fibrosis ($A \geq 2$ or $F \geq 2$ in the Metavir scale). In patients with normal ALT and HBV-DNA titers > 2000 IU / ml, the level of hepatic damage determines the needed of antiviral treatment. A special case is the inactive HBV carriers, with normal ALT levels, low level of HBV-DNA titers and absence of liver damage, in whom antiviral treatment is not indicated. However, it has been reported that there is a proportion of asymptomatic carriers in which liver injury can progress during long time follow-up. Furthermore, the inactive carriers maintain the expression of viral proteins, such as HBsAg and HBx. These proteins have been shown to be involved in the induction of changes in the gene expression levels and epigenetic marks, which are potentially related with neoplastic development.

Objectives.

The main objectives of this project are:

- A. To identify the most frequent mutations in the Pre-S, Pre-core/core and HBx protein region, in population of inactive HBV carriers.
- B. To study the methylation patterns of cellular and viral genes involved in progression of liver fibrosis and the development of hepatocellular carcinoma.
- C. Development of new diagnostic tools.

For this purpose, we will perform a retrospective and prospective study of *inactive HBV carriers*. *The inclusion and exclusion criteria are:*

Inclusion criteria: Patients not treated for at least 6 months before the start of the project, normal transaminase levels, detectable levels of HBV DNA and minimum activity or no evidence of liver injury ($A1F1$ in Metavir scale). All patients will have follow-up for at least 6 months.

Exclusion criteria: Patients on antiviral therapy against HBV, coinfection with hepatitis C virus (HCV), or HIV and evidence of liver co-morbidities such as alcohol abuse, hepatitis autoimmune or metabolic diseases.

Retrospective and prospective samples of plasma and PBMCs will be analyzed. The HBV-DNA will be analyzed by standard-PCR, and the amplicons obtained will be analyzed by direct sequencing. The hepatic fibrosis will be evaluated by transient elastometry (FibroScan). When possible, additional elastometry will be performed during follow-up. The promoter CpG methylation will be performed using the standard bisulfite techniques, and interpreted using the CpGPlot.

Preliminary results.

This project is in the initial phases and no preliminary data are available.

Performance evaluation of a qPCR based point-of-care test (POCT) for blood-borne viral infections: HCV, HIV and HTLV.

PRINCIPAL INVESTIGATORS: Antonio Madejón

PARTICIPANT GROUPS: HCV work groups

FINANCING SOURCES: EPISTEM S.L

Background.

The fast determination of viral load is crucial for monitoring the evolution of HBV and HCV infections. However, the methodology used today has some several drawbacks such as the complexity of infrastructure required, the need for qualified personnel and a high cost. Therefore, new, rapid and more easy accessibility diagnostic platforms are being developed, focused at enabling molecular diagnosis in other fields of microbiology, with the establishment of the so-called test at the patient's bedside or point of care ("point-of-care testing", POCT).

The development and implementation of POCT for molecular diagnosis requires joint efforts between the biotech industry and the clinical setting, which combine the provision of appropriate technology platforms and knowledge of their application and diagnostic performance.

Main goal.

To know the dynamic ranges of the GeneDrive system (Epistem, S.L), a qPCR platform that allows semi-quantitative identification of nucleic acid sequences, for detection and discrimination of the different HCV genotypes by analysis of melting curves.

Methods.

In the first phase of the project, we will clone the 5'-UTR region of HCV in order to study the sensitivity and reproducibility of the technique.

The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive value of the HCV detection technique will be analyzed. For this purpose we will incorporate standards of known concentration (100, 1000 and 10000 IU/mL of HCV-RNA). In addition, the ability to discriminate HCV genotypes and subtypes will be also analyzed.

Finally, and since the final aim of this project is to develop a diagnostic system, we will test inter- and intra-batch reproducibility. The intra- and inter-assay variability will be evaluated by calculating the corresponding coefficients of variation. The agreement between the quantitative results of the GeneDrive system with other commercial techniques will be made by the Bland-Altman method, while in the analysis of qualitative variables (genotype variants and polymorphisms) the Kappa index will be used. Data will be analyzed using SPSS v.16.

In a second phase of the study we will perform a validation study using clinical samples, in which there will be a state of the art validation with the previously established operating parameters by testing plasma samples from patients infected with HCV. Given the geographic distribution of HCV infection, it is possible to include sufficiently representative samples of genotypes 1-4. By contrast, analysis of genotypes 5 and 6 will be limited to fewer patients. The sample size for the populations studied will be: Subtype 1a: n= 25; Subtype 1b: n= 25; Genotype 2: n= 50; Genotype 3: n= 50; Genotype 4: n= 50, Genotype 5: n= 5-10; Genotype 6: n= 2-10. Healthy donors: n=10; HBV positive: n=10.

Identification and validation of angiogenic biomarkers of chronic hepatitis c progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Dra. PALOMA SANZ CAMENO

PARTICIPANT GROUPS: Dr. Salmerón, Hospital Universitario San Cecilio Granada (Programa 2 CIBERehd); Dr. García-Samaniego, Dr. Madejón, Hospital Universitario Carlos III (Programa 2 CIBERehd); Dr. Forns, Dra. Pérez del Pulgar (Programa 2 CIBERehd)Dr. Pérez-Gisbert, Dr. Abad, Hospital de La Princesa Madrid (Programa 6 CIBERehd), CIC bioGUNE; Dr. Rodrigo, Dr. Vidal-Castiñeira, Hospital Central de Asturias; Dr. Ladero, Hospital Clínico Madrid; Dra. Algíbez, Hospital Doce de Octubre de Madrid

FINANCING SOURCES: AIO-AECC, 2010-2015

SUMMARY OF THE PROPOSAL

Chronic hepatitis C (CHC) is the major cause of liver disease worldwide and the main risk factor for cirrhosis and hepatocellular carcinoma development. Hepatocellular carcinoma is the third leading cause of malignancy death worldwide.

The molecular mechanism that fosters the development of CHC to hepatocellular carcinoma still remains to be elucidated, although it has been pointed out the importance of the genetic profile of patients for the natural history course of the disease and response to treatment. Similarly, certain genetic variants in the most important mediators of inflammation, angiogenesis and fibrosis, may be responsible for differential progression of CHC to cirrhosis and hepatocellular carcinoma.

Angiogenesis is a central event of carcinogenic processes and is closely linked to the pathophysiology of CHC. In recent years different studies have shown the significance of certain angiogenic factors in the progression of CHC to cirrhosis and hepatocarcinoma. However, there is little data concerning the influence of genetic polymorphisms in the expression and function of these factors and mediators of cell signaling in the course of CHC.

Therefore, this project will study the functional role of genetic variants related to other angiogenic factors and mediators on the evolution of CHC to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The main clinical, demographic and genetic variables related to the progression of CHC will be analyzed together to develop predictive models.

GOALS

- 1) To characterize genetic, clinical, and demographic risk markers of the progression of CHC and survival in HCC.
- 2) To validate the primary cirrhosis- and HCC-associated variants in an independent cohort of patients with CHC.
- 3) To develop predictive mathematical models of CHC progression and analyze their precision (AUC-ROCs), choice of clinically relevant values (cutoffs), sensitivity, and specificity.

Epigenetic modulation of chronic hepatitis c progression to hepatocellular carcinoma: role of histone deacetylases genetic variants

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Dra. PALOMA SANZ CAMENO

PARTICIPANT GROUPS: Dr. Salmerón, Hospital Universitario San Cecilio Granada (Programa 2 CIBERehd); Dr. García-Samaniego, Dr. Madejón, Hospital Universitario Carlos III (Programa 2 CIBERehd); Dr. Pérez-Gisbert, Dr. Abad, Hospital de La Princesa Madrid (Programa 6 CIBERehd), CIC bioGUNE; Dr. Rodrigo, Dr. Vidal-Castiñeira, Hospital Central de Asturias; Dr. Ladero, Hospital Clínico Madrid; Dra. Algíbez, Hospital Doce de Octubre de Madrid

FINANCING SOURCES: FUNDACIÓN MUTUAMADRILEÑA, 2012-2015

SUMMARY OF THE PROPOSAL

Chronic hepatitis C (CHC) shows a high progression rate to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. There are important evidences regarding the role of alteration of epigenetic regulatory mechanisms on the development of many diseases, especially those tumoral. A major molecular mechanism of gene expression regulation is exerted by the acetylation of

histones and of other crucial proteins in many signaling pathways. The modifications of histone deacetylases (HDACs) expression and function have often been linked to cancer. Because the genetic variability can significantly influence the activity and expression of proteins, the purpose of this project is to analyze the influence of HDACs genetic polymorphisms on the progression of chronic hepatitis C to hepatocellular carcinoma (HCC) and their association with antiviral and antitumor therapy outcomes. To this end, numerous selected SNPs (96) of the different HDACs (1-11) will be genotyped (Golden Gate Assay®, Illumina) in healthy subjects (n = 200), HCC patients (CHC etiology) and CHC patients at different stages of the disease (without fibrosis, moderate fibrosis, cirrhosis) and different responses to treatment (n = 800). Finally, the influence of the relevant polymorphisms in the expression and function of HDACs in available liver biopsies of these patients will be analyzed.

GOALS

1- To identify the association of HDACs genetic polymorphisms with chronic hepatitis C progression to cirrhosis and HCC. The prognostic value and possible relation to response outcomes of identified variants will be also assessed.

2- To determine the expression levels and function of HDACs in the liver tissue of the different groups of patients (HCC, CHC and controls), with special attention to disease stage and response to treatment.

3- To examine the influence of analyzed polymorphisms on the expression and function of HDACs in the liver tissue of patients with HCC, HCC and control subjects.

Relationship between cellular polarity and HCV infection: possible role in hepatocarcinoma.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Dr. PEDRO L MAJANO

PARTICIPANT GROUPS: Dr. Xavier Forns, George Koutsoudakis, Sofía Pérez del Pulgar (Programa 2 CIBERehd); Dr. Javier González-Gallego, Sonia Sánchez-Campos (Programa 3 CIBERehd); Dr. Jesús Prieto-Rafael Aldabe; José Juan García Marín-Oscar Briz (Programa 5 CIBERehd).

FINANCING SOURCES: Instituto de Salud Carlos III ISCIII (FIS PI10/00101).

SUMMARY OF THE PROPOSAL

Hepatotropic viruses, including Hepatitis C virus (HCV), chronically infect millions of people worldwide. Infection can lead to fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma, and is the major reason for liver transplantation. Current standard-of-care therapy against chronic hepatitis C, pegylated IFN-alpha in combination with ribavirina, is frequently not effective depending on both viral and host factors.

GOALS

Our previous studies have demonstrated that HCV promotes structural and functional alterations of intercellular junctions and that occludin, a tight junction associated protein, plays an essential role in HCV infection. We have also described a novel use of Matrigel-embedded hepatocytes cultures to study the HCV infection in a more polarized context. These three dimensional cultures supported the entire HCV infection cycle and produced infective viral particles. We are interested in understanding how HCV interacts with target cells, with particular emphasis on the role of the cellular factors implicated in different steps of the viral life cycle including entry, replication, morphogenesis and egress. In overall, these studies may provide new insights for our understanding of virus-host interactions and the molecular mechanisms underlying hepatotropic viruses-related pathogenesis of progressive liver disease.

New therapeutic strategies: Ribavirin/ error catastrophe/ aptamers

PRINCIPAL INVESTIGATORS: Dr. E. DOMINGO, J.GOMEZ, C.BRIONES, C. PERALES

PARTICIPANT GROUPS: Dr. J.Gómez, J.I.Esteban Aldabe; José Juan García Marín-Oscar Briz (Programa 5 CIBERehd).

FINANCING SOURCES: Instituto de Salud Carlos III ISCIII, MINECO. Ciberehd.

SUMMARY OF THE PROPOSALS

- To study if a sequential inhibitor-mutagen administration can have an advantage over the corresponding combination. This will be explored with HCV replicating in hepatoma cells with the objective of designing shorter, sequential treatments that would diminish time of treatment, side-effects and cost, and increase adherence:

IP: C.Perales and E. Domingo

- To study the effect of HCV fitness in the response to ribavirin, inhibitors and sequential treatments.

PI: C.Perales and E. Domingo

- Effects of random mutagenesis of the HCV 5'UTR on its recognition by biochemical factors *in vitro*. And of ribavirine in cell culture of hepatoma cells.

PI: J.Gómez

Participant Groups: C. Perales, E.Domingo, J.Quer and JI Esteban

- In vitro selection of (RNA or DNA) aptamers against HCV CORE protein, and validation in cell culture (Briones C col Perales C and Domingo E)

PI: C.Briones

Participant Groups: C.Perales and E. Domingo

Basic

Structural study of HCV 5'UTR 1 using DNA microarrays:

A.- Patient virus samples

PI: C. Briones

Participant Groups; J Samaniego y M Romero

B.- In vitro mutagenized RNAs:

PI: C.Briones

Participant Groups: J.Gómez

C.- Atomic Force microscopy:

PI: C.Briones

Participant Groups: J.Gómez

Epidemiology and prevention of mother-to-child transmission of HBV and HCV

PRINCIPAL INVESTIGATORS: Dr. A. Ruiz-Extremera

PARTICIPANT GROUPS: All groups

FINANCING SOURCES: PI13/01925 Instituto de Salud Carlos III ISCIII, MINECO. Ciberehd.

Multicentric study :

HU San Cecilio, Granada, HU Torrecardenas, Almería, HU Virgen del Rocío, Sevilla, HU Virgen de las Nieves, Granada, HU Materno-infantil Carlos Haya y Virgen de la Victoria, Málaga, HU La Fe de Valencia, HU Maternoinfantil la Paz,, HU Central de Asturias, HU 12 de Octubre, Madrid, HU Maternoinfantil de las Palmas de GC, Hospital Clinic Barcelona, Hospital Univ. Vall d'Hebron Barcelona, Hospital Valme de Sevilla.

Programa 3: Colestasis, Trastornos Metabólicos y Hepatotoxicidad

Coordinador: Juan F. Medina

Coordinadores Adjuntos: Albert Parés y José C. Fernández-Checa

1. Introducción/presentación: Relevancia clínica-científica de los temas que se abordan en el Programa 3

El Programa 3 desarrolla actividades de investigación (básica, clínica y epidemiológica) y de desarrollo tecnológico en el ámbito de la hepatología, relacionadas fundamentalmente con la **colestasis** y los **trastornos metabólicos** y de **hepatotoxicidad**. En lo que a la colestasis se refiere, las actividades se enfocan de modo particular hacia la cirrosis biliar primaria (CBP). Y en lo referente a los trastornos metabólicos y de hepatotoxicidad, predominan las actividades relacionadas con la enfermedad hepática grasa (EHG), tanto la esteatosis como la esteatohepatitis alcohólica (EHA o ASH) y no alcohólica (EHNA o NASH), y los mecanismos moleculares que causan hepatotoxicidad.

La **colestasis** conlleva alteraciones en el flujo biliar, con retención de sustancias que normalmente se eliminan por la bilis. Puede ser consecuencia de anomalías intrahepáticas: a) en la captación a nivel del polo sinusoidal del hepatocito; b) en la síntesis y metabolización de estas sustancias a nivel celular; c) en su eliminación en el polo canalicular; d) a nivel de los conductos biliares intrahepáticos que pueden sufrir daño y destrucción. Por otra parte, la obstrucción de las vías biliares extrahepáticas también puede producir un cuadro clínico de colestasis. Las causas mecánicas/obstructivas tienen una patogenia muy bien definida y la colestasis suele resolverse al eliminar la obstrucción. Por el contrario, las enfermedades colestásicas no mecánicas son mucho menos conocidas. Fuera del campo pediátrico, i.e. en el adulto, las enfermedades colestásicas crónicas se suelen caracterizar por una inflamación a nivel de los conductos biliares. En España estas enfermedades son relativamente poco frecuentes e incluyen básicamente la CBP, la colangitis esclerosante primaria (CEP) y las formas colestásicas de la hepatitis autoinmune. También cabe considerar en el adulto las formas tardías de enfermedades con base genética debido a mutaciones a nivel de los transportadores biliares, como la colestasis familiar progresiva (enfermedad de Byler), en sus distintas variantes, incluyendo la forma recurrente benigna, así como el síndrome de Alagille, las colestasis asociadas a cambios hormonales –por ejemplo, la colestasis intrahepática gestacional–, y las situaciones iatrogénicas inducidas por tratamientos con preparados de hormonas esteroides, así como la colestasis inducida por hepatotoxinas.

Clínicamente la colestasis suele manifestarse por ictericia, coluria, acolia y ocasionalmente prurito intenso. En el suero se detecta un aumento de las sales biliares, de la bilirrubina conjugada, fosfatasa alcalina y gamma glutamil transpeptidasa, así como del colesterol. En ausencia de tratamiento eficaz, la consecuencia de la colestasis crónica es el desarrollo de una fibrosis hepática progresiva que puede llegar hasta la cirrosis. Además, es frecuente que los pacientes tengan una patología metabólica ósea, particularmente osteoporosis. Hasta el

momento, se desconocen los mecanismos implicados en la aparición de la osteoporosis. El prurito es otro problema frecuente en los pacientes con colestasis, y su patogenia aún no está definitivamente aclarada; puede llegar a ser tan incapacitante como para motivar el trasplante de hígado.

Las **alteraciones del metabolismo hepatocelular** pueden estar implicadas en la fisiopatología de la esteatohepatitis (por el alcohol o sin él, i.e. EHA ó EHNA). En realidad la esteatohepatitis constituye una fase avanzada en el espectro de la EHG o enfermedad del hígado graso. En su estadio inicial se caracteriza por una simple infiltración de grasa, y el cuadro, denominado esteatosis hepática, es a menudo considerado benigno y reversible. En su estadio más avanzado de esteatohepatitis, la acumulación de lípidos en el citoplasma hepatocelular se acompaña de lipotoxicidad y daño hepático, con inflamación y fibrosis. Todo ello puede desembocar en el desarrollo de cirrosis, llegando en ocasiones hasta el carcinoma hepatocelular. Aunque la etiopatogenia de la EHA y la EHNA es distinta, siendo el consumo de alcohol el elemento diferencial de la primera, las características histológicas de una y otra son casi idénticas, mostrando ambas la presencia de esteatosis (macrovesicular > microvesicular), inflamación lobulillar con presencia de leucocitos polimorfonucleares y células mononucleares, y muerte hepatocelular por apoptosis y necrosis. La fibrosis y la presencia de cuerpos de Mallory reflejan el progreso de la enfermedad a estadios más avanzados. La incidencia de EHA y sobre todo de EHNA es elevada con una estimación del 1% y el 10%, respectivamente, de la población adulta en países industrializados. Así EHNA es la causa más común de disfunción hepática en la población general. Su alta incidencia se debe a que se encuentra muy asociada con la obesidad y las alteraciones metabólicas derivadas de ésta como la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. Por otra parte, el fallo hepático fulminante (FHF) es un síndrome clínico muy grave asociado con una alta morbilidad y mortalidad, caracterizado por importantes alteraciones metabólicas. A pesar de la elevada incidencia de las distintas formas de esteatohepatitis en la población general, los mecanismos moleculares implicados no se conocen todavía con la suficiente profundidad. Sin duda, un mejor conocimiento de dichos procesos tanto a nivel molecular como celular podrá facilitar un mejor diagnóstico de la enfermedad mediante aproximaciones poco invasivas, así como el desarrollo y recomendación de tratamientos más eficaces.

Por último cabe considerar la iatrogenia de la **hepatotoxicidad** por fármacos. La hepatotoxicidad iatrogénica idiosincrásica representa un auténtico desafío al proceso de desarrollo clínico de los medicamentos. Su incidencia es difícil de determinar con precisión, debido a su deficiente detección y diagnóstico. Se estima que los fármacos son responsables de un 2-5% de las hospitalizaciones por ictericia, 10% de los casos de hepatitis en adultos y el 10-15% de los casos de hepatitis fulminante. Su prevalencia ha ido en aumento debido al creciente consumo de medicamentos en las sociedades desarrolladas. Tras la hepatotoxicidad idiosincrásica por fármacos subyacen múltiples y complejos mecanismos difícilmente predecibles con modelos no humanos.

Tabla resumen de los grupos incluidos en el Programa 3:

Grupo	IP grupo	Código	Componentes	Descriptor grupo
-------	----------	--------	-------------	------------------

				Total / IPs	
Unidad Hepatología, Universidad de Málaga	R.J. Andrade	3AND	10 / 2	Hepatotoxicidad	
Fundación IMABIS					
UHE-La Fe, Universidad de Valencia	J.V. Castell	3CST	9 / 5	Hepatotoxicidad	Trastornos Metabólicos
IIBB-CSIC/IDIBAPS, Barcelona	J.C. Fernández Checa	3FCH	11 / 6	Trastornos Metabólicos	
Instituto de Biomedicina de León	J. González Gallego	3GGA	8 / 6	Trastornos Metabólicos	Hepatotoxicidad
CIC bioGUNE, Vizcaya	J.M. Mato	3MAT	10 / 6	Trastornos Metabólicos	Hepatotoxicidad
CIMA, Universidad de Navarra	J.F. Medina	3MED	8 / 3	Colestasis	CBP
Hospital Clinic, Barcelona	A. Parés	3PAR	8 / 5	Colestasis	CBP
IIBM-CSIC/UAM, Madrid	P. Martín Sanz*	3MAR*	4 / 1	Trastornos Metabólicos	
Hospital Santa Cristina, Madrid	C. García** Monzón	3GMO**		Trastornos Metabólicos	
Institut Català de la Salut-IDIAP Jordi Gol	L. Caballería**	3CAB**		Enfermedades hepáticas en atención primaria	

*El grupo de la Dra. P. Martín Sanz (3MAR) es un grupo asociado al CIBERehd.

**Grupos vinculados al CIBERehd.

2. Líneas de Investigación:

2.1. Investigación en enfermedades colestásicas

La CBP es la enfermedad colestásica crónica más frecuente. Suele aparecer en mujeres de mediana edad, y cursa con infiltración mononuclear de los espacios porta y destrucción de

los conductos biliares pequeños y medianos. Sin tratamiento, el cuadro suele progresar hacia cirrosis y enfermedad hepática terminal que requiere trasplante hepático. La etiopatogenia de la enfermedad es desconocida. La presencia de anticuerpos antimitocondriales y de otras alteraciones de autoinmunidad es clásicamente reconocida como una de las características específicas de la enfermedad. A pesar de la aparición de estas alteraciones inmunológicas en esta patología, el ácido ursodesoxicólico (UDCA), un ácido biliar que produce una coleresis rica en bicarbonato, ofrece más beneficios terapéuticos que los fármacos inmunosupresores. Este dato sugiere la existencia de alteraciones en el transporte biliar de bicarbonato en la CBP, que viene siendo demostrada mediante estudios in vivo e in vitro.

Las actividades principales que se llevan a cabo dentro de esta línea de investigación se refieren a:

- i) La epidemiología de la CBP en España, y el análisis de los factores implicados en la respuesta terapéutica al UDCA y otros ácidos biliares.
- ii) El papel del intercambiador de aniones AE2 en la patogenia de la CBP.
- iii) Análisis del purinoma en el árbol biliar.
- iv) El estudio de los mecanismos patogénicos de la osteoporosis y del prurito.

Muchas de estas actividades se desarrollan en red coordinada fundamentalmente por el Dr. A. Parés, con la estrecha colaboración de los grupos de los Dres. J.F. Medina, L. Caballería y J.M. Mato, además de los grupos del Programa 5 de los Dres. J. Prieto, M. Pastor Anglada y J.J. García Marín.

2.2. Investigación en trastornos metabólicos: enfermedades por depósito de grasa y hepatopatías alcohólicas

La enfermedad del hígado graso no-alcohólica (EHGNA o NAFLD) incluye un espectro de alteraciones que van desde la simple acumulación de triglicéridos en los hepatocitos (esteatosis) a la esteatosis hepática con inflamación severa (esteatohepatitis no alcohólica, EHNA o NASH). EHNA a su vez puede progresar a cirrosis y hepatocarcinoma (HCC). Lamentablemente, no existe una prueba clínica o bioquímica que de forma clara permita la identificación precoz de esta enfermedad.

La EHGNA tiene su origen en un flujo excesivo de ácidos grasos desde el tejido adiposo y la posterior acumulación ectópica de lípidos en el hepatocito, que tiene como resultado la apoptosis, el estrés de retículo endoplasmático, y la inactivación de la cascada de señalización del receptor de insulina. La captación de ácidos grasos por un órgano metabólico clave como el hígado está mediada por una serie de proteínas de translocación, transporte y unión, tales como CD36, FATPs y FABP1. Dada su relevancia en la EHNA, es de vital importancia comprender la regulación de los factores que controlan el flujo y metabolismo de ácidos grasos en el hígado.

Al igual que EHNA, la esteatohepatitis alcohólica (EHA) puede progresar hacia la cirrosis alcohólica, siendo ésta una de las principales causas de mortalidad en la mayoría de los países desarrollados, principalmente en la población de mediana edad. Los pacientes mueren por insuficiencia hepática o por hepatocarcinoma. Asimismo, la cirrosis alcohólica es la segunda razón más común para el trasplante hepático. La prevalencia y la mortalidad de la cirrosis alcohólica están directamente relacionados con la ingesta de alcohol en una población determinada, y de hecho, la abstinencia de alcohol es el factor pronóstico favorable más importante en pacientes con esta patología. Sin embargo, del 15 al 30% de los alcohólicos crónicos desarrollan cirrosis, a pesar de la abstinencia de alcohol. Por tanto, la progresión de la cirrosis difiere de un paciente a otro, lo que sugiere que existen otros factores que pueden influir en el desarrollo y progresión de esta enfermedad. Los pacientes con cirrosis avanzada (Child C) o con HCC asociado sólo pueden ser tratados con métodos paliativos o ser sometidos a trasplante de hígado, mientras que en los pacientes con cirrosis compensada existe la posibilidad de emplear nuevos tratamientos con el fin de retrasar la progresión de la enfermedad.

La mayor parte de las actividades que se desarrollan en esta línea de investigación se plasman en colaboraciones entre los grupos e incluso se llevan a cabo en red. Las actividades principales se refieren a:

- i)* El estudio de biomarcadores en la esteatohepatitis.
- ii)* Contribución de la S-adenosilmetionina (SAME) en el desarrollo de la esteatosis y su progresión a esteatohepatitis: Regulación de la actividad Fosfatidil Etanolamina Metiltransferasa (PEMT)-SAME dependiente.
- iii)* Papel de la autofagia en la iniciación de la esteatosis. Contribución de la funcionalidad mTOR-lisomas.
- iv)* Mecanismos implicados en la transición de la esteatosis a la EH no alcohólica (EHNA/EHGNA): autofagia y estrés del retículo.
- v)* La contribución de los esfingolípidos en el metabolismo celular y progresión de la esteatohepatitis.
- vi)* Modulación de la quimioterapia en HCC por esfingolípidos.
- vii)* Mecanismos de lipogénesis y fibrosis y relevancia en la esteatohepatitis.
- viii)* Susceptibilidad hepatocelular al estrés oxidativo por colesterol y su impacto en la esteatohepatitis y colestasis.
- ix)* Validación del papel del colesterol mitocondrial en esteatohepatitis en ratones con deleción selectiva de StARD1 en hígado.
- x)* Progresión desde esteatosis a transformación neoplásica hepática.
- xi)* Estudio de las alteraciones metabólicas y de nuevos enfoques terapéuticos en un modelo animal de fallo hepático fulminante.
- xii)* Nuevos enfoques en la patogénesis de NAFLD: influencia de la microbiota e implicación de fármacos.
- xiii)* Regulación del gen GNMT. Factores implicados. Relevancia del LRH1 en el control de la vía lipogénica dependiente de GNMT.
- xiv)* Contribución de las prostaglandinas producidas por COX-2 al inicio y desarrollo de la EHGNA.
- xv)* Papel de la autofagia e implicación del estrés del retículo en la EHGNA.
- xvi)* Papel de la hipoxia intermitente en la patogenia de la EHGNA. Implicaciones diagnósticas y terapéuticas.

Las actividades en red vienen siendo coordinadas fundamentalmente por el grupo de los Dres. J.M. Mato y M.L. Martínez Chantar, con la estrecha colaboración de los grupos de los Dres. J.C. Fernández-Checa, J. González Gallego, J.V. Castell, P. Martín Sanz (*grupo asociado*), y C. García Monzón (*grupo vinculado*). Colaboran además grupos de los otros programas: del 2 (Dr. M. Romero Gómez), del 4 (Dr. M. de la Mata), y del 5 (Dres. J. Prieto, J Bruix, J.J. García Marín y L. Bujanda).

2.3. Estudios sobre los mecanismos moleculares de hepatotoxicidad

Los estudios sobre hepatotoxicidad constituyen la tercera línea de investigación del Programa 3. En este apartado, la hepatotoxicidad por fármacos (DILI, del inglés *Drug Induced Liver Injury*) ocupa un lugar destacado. DILI es un fenómeno complejo tanto por la diversidad de mecanismos implicados como por sus diferentes manifestaciones clínico-patológicas. Entre los mecanismos más habituales se pueden considerar los siguientes: 1) disfunción mitocondrial, responsable de alteraciones del metabolismo energético, del metabolismo de lípidos y su acumulación, esteatosis; 2) alteración de la homeostasis intracelular del calcio, que puede conllevar alteraciones en múltiples funciones metabólicas celulares; 3) genotoxicidad, con resultado de daño al DNA; 4) activación de la apoptosis, con resultado de muerte celular; 5) estrés oxidativo, con alteraciones del estado redox de la célula, niveles de GSH, y vulnerabilidad frente a ROS y especies reactivas derivadas del fármaco y la peroxidación lipídica; 6) alteración de transportadores específicos, cuya manifestación clínica más evidente es la colestasis; 7) bioactivación, con la formación de metabolitos reactivos capaces de generar toxicidad directa y/o aductos con capacidad inmunogénica. Todos estos mecanismos pueden contribuir en mayor o menor medida al daño hepático, y coexisten en el curso del fenómeno tóxico desencadenado por un determinado fármaco.

El número de moléculas con actividad farmacológica capaces de inducir daño hepático es elevado. Existen sustancias que poseen una toxicidad intrínseca para los hepatocitos, de manera que, a partir de una cierta concentración, su efecto tóxico se manifiesta siempre. Sin embargo, la hepatotoxicidad más preocupante desde el punto de vista clínico es la idiosincrásica, i.e. aquella que se manifiesta de manera inesperada, no predecible, y solo en algunos individuos. La hepatotoxicidad idiosincrásica puede deberse (*i*) a un metabolismo anormal del fármaco (por ejemplo, una producción excesiva de un metabolito más tóxico), o bien (*ii*) a una reacción de hipersensibilidad que se manifiesta específicamente en el hígado. En el primer caso, existe una base fenotípica o genotípica y la gravedad de la lesión celular hepática guarda una relación directa con la dosis del fármaco administrada. El fármaco es para esos individuos, una hepatotoxina intrínseca. El segundo tipo de hepatopatía se manifiesta en pacientes en los que previamente no se había observado efectos adversos del fármaco y en donde súbitamente aparece una disfunción hepática que no guarda relación con la dosis administrada. No es por tanto un efecto dosis-dependiente, y en su mecanismo de acción está implicado el sistema inmune.

Los estudios encaminados a identificar los mecanismos moleculares implicados en las diversas formas de hepatotoxicidad pueden ayudar tanto a prevenir el desarrollo del cuadro hepatotóxico como a buscar aproximaciones terapéuticas adecuadas.

En consecuencia, las actividades principales que se llevan a cabo dentro de esta línea de investigación se refieren a:

- i) Mecanismos moleculares de hepatotoxicidad.
- ii) Marcadores no-invasivos de hepatotoxicidad mediante técnicas metabolómicas.
- iii) Análisis genéticos de la población incluida en el Registro Español de Hepatotoxicidad.
- iv) Colestasis por medicamentos: Mecanismos implicados / Regulación de transportadores / Predicción y pronóstico de la respuesta.

Gran parte de estas actividades vienen siendo lideradas por el Dr. R. Andrade, participando además los grupos de los Dres. J.V. Castell, J. González Gallego, A. Parés y J.M. Mato, además de grupos de otros programas: del 1 (Dres. R. Planas y C. Guarner), y del 2 (Dres. M. Romero Gómez y J. Salmerón).

2.4. Detección precoz de enfermedades crónicas del hígado en población adulta aparentemente sana mediante elastografía transitoria.

El grupo del Dr. L. Caballeria (*vinculado*), además de las enunciadas colaboraciones dentro del Programa 3 (particularmente con el grupo del Dr. Parés), lleva a cabo 2 proyectos específicos de Atención Primaria que son colaborativos Intra-Ciber:

- i) Detección precoz de enfermedades crónicas del hígado en población adulta aparentemente sana” PI11/02657 mediante la práctica de una elastografía hepática transitoria (Fibroscan). Se lleva a cabo en colaboración con el Dr. J. Caballería del Programa 3 y dos grupos del Programa 1 (Dres. P. Ginés y R. Planas). Se han reclutado 2400 sujetos (un 8,2% de ellos presenta un Fibroscan alterado, la mitad de los cuales tiene ya realizada una biopsia hepática). Se estima acabar el proyecto para finales de 2015.
- ii) Proyecto FIS titulado “Valor predictivo de la elastografía hepática transitoria respecto a la enfermedad hepática y cardiovascular” (PI14/00407) con los siguientes objetivos:
 1. Conocer el riesgo relativo de padecer enfermedad hepática crónica en pacientes con elastografía hepática alterada respecto a no alterada.
 2. Conocer el riesgo relativo de padecer enfermedad cardiovascular en pacientes con elastografía hepática alterada respecto a no alterada.
 3. Conocer la evolución de la elastografía hepática 3 años después de haberla realizado inicialmente.

Objetivos secundarios:

- conocer la prevalencia de ateromatosis carotídea en pacientes con elastografía alterada o no,
- prevalencia de hígado graso con la elastografía alterada o no en relación a la ateromatosis carotídea y conocer la asociación de diversos polimorfismos y bioquímica con la elastografía hepática.

3. Selección de Proyectos en cada Línea de Investigación

3.1. PROYECTO DE LA LÍNEA DE COLESTASIS:

Epidemiología de la CBP (y otras enfermedades colestásicas crónicas), en España, y análisis de los factores implicados en la respuesta terapéutica óptima.

Grupos implicados:

CIBERehd: Grupos de Dres. A. Parés, L. Caballería, J.F. Medina

Otros (especificar si internacionales):

- Tratamiento con ácido obeticólico en la cirrosis biliar primaria (Dres. Lindor, Poupon, Trauner, Hirschfield, Burroughs y Chapman).
- Tratamiento con budesonida en la cirrosis biliar primaria (Dres. Poupon, Trauner, Hirschfield y Beuers).
- Tratamiento con ácido norurodeoxicólico en la colangitis esclerosante primaria (Dr. Trauner).
- Historia natural y pronóstico de la cirrosis biliar primaria (Dres. Boberg, Chapman, Karlsen y Beuers),
- Presentación, curso y pronóstico de la hepatitis autoinmune.
- Patogenia del prurito de la colestasis (Dres. Beuers, Oude Elferink y Kremer).
- Enfermedades neoplásicas en la cirrosis biliar primaria (Dres. Floreani, Hirschfield, Van Buren)

Objetivos:

1. Caracterizar el curso y supervivencia de la CBP según la presentación de la enfermedad.
2. Definir las variables determinantes del curso de la enfermedad mediante el análisis de una base de datos de pacientes recogidos en diversos centros españoles.
3. Factores de respuesta terapéutica al UDCA y evaluar el potencial de nuevos fármacos en los pacientes con CBP que responden de modo subóptimo al UDCA.
4. Evaluación de métodos no invasivos de progresión de la cirrosis biliar primaria.
5. Patogenia del prurito de la colestasis mediante estudios de proteómica y metabolómica.
6. Características clínicas y epidemiológicas de la colangitis esclerosante primaria (CEP) y de las formas colestásicas de la hepatitis autoinmune.
7. Osteoporosis en las enfermedades colestásicas.
8. Nuevos procedimientos terapéuticos en los pacientes con CEP.

Necesidad de coordinación multicéntrica:

Este es un proyecto amplio de investigación epidemiológica y translacional en el que participan más de 17 centros españoles, la mayoría de los cuales están integrados en el CIBERehd. Para el análisis metabólico y de factores genéticos en la susceptibilidad y respuesta terapéutica al UDCA en la CBP resulta esencial la coordinación con el CIC bioGUNE, y particular con el grupo

FUENTES COFINANCIADORAS:

Fundación Española para el Estudio del Hígado.

Proyectos FIS (Ministerio de Salud) y SAF (Ministerio de Economía y Competitividad).

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	Dic-2012	Evaluación de la elastografía transitoria hepática y respuesta al ácido ursodesoxicólico	Jun-2015
VI	Dic-2012	Polimorfismos genéticos en la colangitis esclerosante y enfermedades autoinmune asociadas	Grupo Internacional establecido (IPSCG) Mar-2013
	Dic-2013	Efecto del ácido ursodesoxicólico en células osteoblasticas	Jun-2013 (publicado)
	Dic-2013	Evaluación del ácido norursodesoxicólico en la colangitis esclerosante primaria	Ene-2016
IX	Dic-2012	Establecimiento de un registro español de enfermedades colestásicas crónicas.	Jun-2015
	Dic-2012		Bezafibratos en la CBP con respuesta subótima al UDCA; Publicado 2013
	Dic-2013		Autotaxina y prurito en la cirrosis biliar primaria.

XIII	Dic-2013	Constitución y aprobación de un banco de sueros y de ADN de pacientes con colestasis crónica y enfermedades hepáticas autoinmunes	Realizado Jun-2014
XIV	Dic-2013	Puesta a punto del análisis de efectos de sustancias que se preconizan como coadyuvantes o alternativas del UDCA sobre actividades de transporte biliar	Entregado Ago-2014
XV	Dic-2013		Definición del síndrome de solapamiento CBP/hepatitis autoinmune.
	Dic-2013	Patogenia del prurito de la colestasis. Estudio inmunohistoquímico en el hígado de pacientes con CBP	Se retrasa a Dic-2015
	Dic-2013	Papel del UDCA en la progresión de la patología ósea en la colestasis	Se retrasa a Dic-2015
	Mar-2014		Alendronato semanal vs ibandronato mensual en la CBP: Publicado Dic-2013
	Dic-2014		Efecto del ácido obeticólico en la CBP. Finalizado estudio de 1 año fase 3. Continúa a 5 años: Inicio estudio fase 4 en Ene-2015
XVI	Dic-2014	Neoplasias extrahepáticas en la CBP	Entregado (online en Clinical Reviews in Allergy and Immunology
	Jun-2014		Criterio unificado de respuesta terapéutica al UDCA (estudio multicéntrico internacional). Publicado Gastroenterology online 2014. Resultados complementarios Dic-2015
	Dic-2015	Propuesta de un nuevo score de criterio de trasplante en la CBP	Dic-2016

	Dic-2014	Implicación de la esclerostina en la patogenia de la osteoporosis de la CBP	Entregado en Dic-2014
	Dic-2014	Efectos proapoptóticos de la bilirrubina y los ácidos biliares sobre las células osteoformadoras	Publicado European Journal of Clinical Investigation Sep-2014
	Dic-2014	Factores de riesgo de progresión de la colangitis esclerosante primaria (IPSCSG)	
	Dic-2014	Elastografía hepática en la colangitis esclerosante primaria	Ya iniciado; entregable en Dic-2019
	Dic-2015	Historia natural y respuesta terapéutica de la hepatitis autoinmune en España	
	Dic-2015		Influencia del UDCA sobre la osteoporosis en la CBP
	Dic-2015		Metabólica del prurito de la colestasis
	Dic-2014	Advancing human antigen-specific T-regulatory cell expanding nanomedicines for autoimmune disease: Translational studies in humanized mice	
	Dic-2014	Estudio multicéntrico internacional sobre fatiga en la cirrosis biliar primaria	
	Dic-2014	Fenotipo de la colangitis esclerosante primaria	
	Dic-2014	Hipotiroidismo y enfermedades autoinmunes asociadas en la cirrosis biliar primaria	

3.2. PROYECTOS DE LA LÍNEA DE TRASTORNOS METABÓLICOS

3.2.a. Estudio de biomarcadores en la esteatohepatitis.

Grupos implicados:

CIBERehd: Grupos de Dres. J.M. Mato, J.C. Fernández-Checa, R. Andrade, C. García Monzón, J. González Gallego y J.V. Castell, del Programa 3 (así como de Dres. M. Romero Gómez del Programa 2 y M. de la Mata del Programa 4).

Como se ha comentado anteriormente, la enfermedad del hígado graso no-alcohólica (EHGNA o NAFLD) incluye un espectro de alteraciones que van desde la simple acumulación de triglicéridos en los hepatocitos (esteatosis, ENA) a la esteatosis hepática con inflamación severa (esteatohepatitis no alcohólica, EHNA), la cual puede a su vez progresar a cirrosis y hepatocarcinoma. Puesto que hasta el momento no existe una prueba clínica o bioquímica que de forma clara permita la identificación precoz de esta enfermedad, la identificación de nuevos métodos diagnósticos no invasivos en etapas precoces de la enfermedad y de posibles dianas que puedan servir de base para la generación de fármacos específicos cubrirá expectativas importantes en esta enfermedad tan extendida.

Otro de los proyectos pretende contribuir a la determinación del perfil metabólico sérico de los pacientes alcohólicos mediante el uso de tecnologías de alto rendimiento con el fin de diferenciar los pacientes cirróticos con diferentes grados de progresión y gravedad de la enfermedad. La consecución de este objetivo permitirá un pronóstico diferencial entre pacientes que desarrollan insuficiencia hepática y aquellos que se mantienen estables después de la abstinencia y son candidatos al tratamiento con nuevos protocolos terapéuticos. En los grupos de estudio se incluirán alcohólicos crónicos y grupos de pacientes cirróticos por otras etiologías (EHNA y hepatitis C), con el fin de analizar la posible influencia de alcohol en el perfil metabólico de los pacientes.

Una vez determinado el perfil metabólico de los pacientes alcohólicos con diferente grado de afectación hepática, se ha diseñado otro estudio basado en la metabolómica con el objetivo de investigar si existen marcadores capaces de diferenciar la hepatitis alcohólica grave de la cirrosis hepática alcohólica descompensada, lo que en la actualidad sólo puede establecerse con seguridad mediante un método invasivo como es la biopsia hepática.

En estos dos últimos proyectos se han incluido 179 pacientes alcohólicos con una enfermedad de diferente gravedad desde cambios mínimos a cirrosis descompensada. Para el segundo estudio, los pacientes incluidos han sido 47 con una hepatitis alcohólica grave y 41 con una

cirrosis descompensada. En la anualidad de 2014 se ha de concluir el análisis de los resultados e iniciar la validación de los mismos en una cohorte independiente de pacientes.

Objetivos:

- 1.- Validación de marcadores metabólicos en el diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).
- 2.- Pacientes alcohólicos y su progresión hacia la cirrosis: biomarcadores metabólicos predictivos: Interesa también determinar biomarcadores específicos de esteatohepatitis alcohólica (EHA) e identificar si existen metabolitos coincidentes con EHNA/EHGNA.
3. Validación de los marcadores predictivos de EHA y EHNA en una cohorte diferente de pacientes previamente empleada para el análisis inicial.
4. Identificación de marcadores en pacientes con NAFLD en pacientes de diferente etiología: obesidad, diabetes tipo 2, y pacientes esquizofrénicos tratados con antipsicóticos que desarrollan síndrome metabólico.
5. Puesta en marcha de la plataforma de Metabolómica por aproximación de Resonancia Magnética Nuclear en muestras de orina de pacientes con EHNA.

Necesidad de coordinación multicéntrica:

Este es un proyecto que claramente se beneficia de la sinergia entre los grupos experimentales y clínicos constituyentes del programa 3. Dada el volumen de recopilación de muestras de pacientes con esteatohepatitis, la cooperación y participación de distintos centros hospitalarios ha permitido completar satisfactoriamente las fases I y II del proyecto. El procesamiento y análisis a nivel metabolómico está coordinado desde el CIC bioGUNE.

FUENTES COFINANCIADORAS:

National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), USA.

University of Southern California (USC).

Ministerio de Economía y Competitividad

Fondo de Investigaciones Sanitarias

Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco

Proyectos de Excelencia Inter-Ciber (Instituto de Salud Carlos III)

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	Dic-2010	Recopilación y estadiaje de muestras de pacientes de EHA/EHNA	
I	Dic-2010	Validación perfil metabolómico en suero en controles sanos y EHNA	Identificación de metabolitos diferenciales entre grupos controles y EHNA
II	Dic-2011	Comparación perfil metabolómico en grupos experimentales en ratones MAT1A KO, GNMTKO	Identificación y validación de datos en comparación con pacientes EHNA
III	Dic-2012	Expresión diferencial del perfil metabolómico entre EHA y EHNA	Identificación y validación en grupos experimentales de EHA y EHNA
IV	Dic-2013	Patrón del perfil metabolómico de pacientes con EHA y EHNA	Estandarización del perfil diferencial entre EHA y EHNA
V	Dic-2014	Validación del perfil metabolómico de pacientes con EHA y EHNA	Biomarcadores metabólicos para EHA y EHNA
VI	Dic-2014	Validación del perfil metabolómico de pacientes con HA grave y cirrosis descompensada	Biomarcadores metabólicos para HA grave y cirrosis descompensada
VII	Jun-2015	Patrón del perfil metabolómico de pacientes con HA grave y cirrosis	Publicación de los resultados
VIII	Dic-2015	Inicio y recogida de las muestras de suero de diferente etiología y validación de los marcadores metabólicos de NAFLD	Validación de biomarcadores metabólicos de NAFLD en diferentes cohortes de pacientes

3.2.b Papel de la ASMas y lisosomas en pacientes con hepatitis alcohólica.

Grupos implicados:

CIBERehd: Proyecto internacional con la participación de USC/UCLA y grupos del CIBERehd (Dres. J.C. Fernández-Checa, J.M. Mato, R. Andrade y C. García Monzón).

La ASMasa constituye una fuente de generación rápida de ceramida que participa no solo en procesos proapoptóticos sino también en los mecanismos profibrogénicos. La activación proteolítica de la ASMase a su forma madura es un proceso complejo. La maduración de la pro-ASMase requiere el procesamiento de su extremo C-terminal en los endolisosomas. La forma pro-ASMasa inactiva de 75 kDa es procesada tanto a una variante secretora dependiente de Zn^{2+} como a una forma activa de 65 kDa independiente de Zn^{2+} , que es sensible a la acción de inhibidores como imipramina/amitriptilina.

El papel de los lisosomas en la esteatohepatitis ha sido poco caracterizado. En modelos de ASH se ha observado el incremento de catepsina B en el citosol de ratas alcohólicas, sugiriendo la ruptura lisosomal. La activación de la ASMase requiere de un pH óptimo de 4,5 y regula el procesamiento de catepsinas lisosomales como la catepsina B/D. Por tanto, el objetivo global del proyecto es valorar la activación de la ASMasa y el estado lisosomal en pacientes con hepatitis alcohólica y no alcohólica.

Objetivos específicos:

- 1.- Procesamiento proteolítico y activación de la ASMasa en pacientes con ASH/NASH.
- 2.- Morfología lisosomal y expresión génica en pacientes con ASH/NASH.

Necesidad de coordinación multicéntrica:

El proyecto requiere la interacción y colaboración de investigadores básicos, con un conocimiento de la función de esfingolípidos y biología celular, y clínicos para el desarrollo del proyecto. En el mismo participarían grupos del programa 3 del Ciberehd, así como otros grupos internacionales de USC/UCLA en Los Angeles para optimizar al máximo el procesamiento de las muestras de pacientes.

FUENTES COFINANCIADORAS:

National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), USA.

University of Southern California, USC.

Ministerio de Economía y Competitividad

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	Jun-2013 hasta Jun-2015	Recogida de muestras	
II	Jun-2013 hasta Jun-2015	Expresión ASMasA.	Análisis en pacientes y validación en modelos.
III	Jun-2013 hasta Jun-2015	Morfología lisosomal.	Análisis en pacientes y validación en modelos.

3.3. PROYECTO DE LA LÍNEA DE HEPATOTOXICIDAD

3.3. PROYECTO DE LA LÍNEA DE HEPATOTOXICIDAD

Investigación Farmacoepidemiológica y Análisis genéticos y estudios mecanísticos de la población incluida en el Registro Español de Hepatotoxicidad.

Grupos implicados:

CIBERehd: Grupos de los Dres. R.J. Andrade, A. Parés y J.M. Mato, además de M. Romero Gómez (Programa 2), J. Salmerón (Programa 2), R. Planas (Programa 1) y C. Guarner (Programa 1).

La hepatotoxicidad idiosincrásica representa un auténtico desafío al proceso de desarrollo clínico de los medicamentos, ya que no puede en general ser detectada durante la fase de desarrollo de los mismos. La investigación de los factores de susceptibilidad individual se

centra en el momento actual en la identificación de factores del huésped (genéticos) que predispondrían a una minoría de sujetos a sufrir efectos tóxicos en el hígado cuando son tratados con dosis terapéuticas de medicamentos de uso común.

Aunque la lesión hepática tóxica por fármacos es generalmente reversible tras la suspensión del fármaco, no es bien conocido el riesgo o susceptibilidad de desarrollar enfermedad hepática o fallecimiento por causa hepática tras un episodio previo de DILI. Un estudio previo de nuestro grupo (FIS 04/1688) ha demostrado una elevada prevalencia de evolución crónica, además, hemos documentado que un 2º episodio de hepatotoxicidad por un fármaco distinto al inicial se manifiesta frecuentemente como una hepatitis autoinmune.

La morbimortalidad de causa hepática de los pacientes que han sufrido un episodio de hepatotoxicidad idiosincrásica por fármacos y su propensión a presentar hospitalizaciones o fallecimientos por diagnósticos relacionados con enfermedad hepática, así como la incidencia de otros episodios de hepatotoxicidad, la probabilidad de desarrollar hepatitis autoinmune así como otras enfermedades autoinmunes no son conocidos en el momento actual.

Además, gracias a la amplia cohorte de pacientes seguida a largo plazo, hemos desarrollado un análisis para evaluar y definir el mejor punto de corte para establecer cronicidad en DILI y los factores de riesgo relacionados con dicha cronicidad. A lo largo de la literatura, la consideración o definición de cronicidad en DILI ha variado, mientras que algunos autores han considerado crónico un episodio de DILI que no se resuelve en los tres primeros meses (Benichou, 1990), otros han usado 6 meses como punto de cohorte (Chalasan, 2008), incluso se ha establecido un punto de cohorte diferente en 3 y 6 meses en función de si el tipo de daño era hepatocelular o colestásico/mixto respectivamente (Andrade 2006, Björnsson 2007). Esta variedad de definiciones muestra la necesidad de aunar esfuerzos para establecer y consensuar una definición para todos, de esta necesidad surge nuestro análisis. Nos encontramos en una posición privilegiada para poder acometer estos estudios pues en la base de datos actualmente tenemos registrados aproximadamente 1000 episodios de sospechas de hepatotoxicidad con un seguimiento adecuado, en una gran proporción de los casos hasta alcanzar la normalización del episodio.

Recientemente hemos desarrollado un algoritmo pronóstico de fallo hepático fulminante (FHF) en hepatotoxicidad, con el que a través de un árbol de decisiones, y con información clínica, se puede establecer qué pacientes tienen un riesgo aumentado de FHF. Un próximo objetivo es validar nuestro algoritmo no sólo en pacientes DILI sino en pacientes con hepatitis agudas de otros orígenes (hepatitis aguda A, B, debut hepatitis autoinmune)

Amoxicilina clavulánico es el fármaco responsable del mayor número de incidencias de hepatotoxicidad en el Registro Español. La hepatotoxicidad se presenta de forma variada con los tres tipos de daño: hepatocelular, colestásico y mixto. La gran cantidad de información disponible clínica y genética podría utilizarse para calcular el riesgo acumulado de hepatotoxicidad por este agente según fenotipo de presentación del daño.

Estudios mecanísticos.

El seguimiento de una cohorte prospectiva de pacientes con un diagnóstico preciso de hepatotoxicidad causado por xenobióticos es una condición esencial previa a la realización de estudios mecanísticos, habiéndose sugerido además la necesidad de obtener al menos 100 individuos para poder detectar diferencias genéticas en los estudios de susceptibilidad.

La presencia del haplotipo DRB1*1501-DRB5*0101-DQB1*0602 se ha vinculado a la hepatitis colestásica inducida por el ácido-clavulánico, pero no con las características clínicas, severidad de la hepatitis o evolución histológica, aunque otro alelo HLA B18 se relacionó con la variedad hepatocelular en población española y además con una gravedad mayor de la presentación clínica. Un estudio previo de nuestro grupo encontró una asociación entre los alelos HLA-DRB1*15 y DQB1*06 y la lesión hepática tipo colestásica/mixta. Es posible que los alelos de HLA II puedan explicar por qué un fármaco puede causar diferentes patrones de daño hepático. Ejemplos documentados de factores genéticos que inducen susceptibilidad en general son los polimorfismos de la glutatión S-transferasa y la manganeso superóxido dismutasa mitocondrial [Lucena et al, 2010] así como los polimorfismos de las interleucinas IL 4 y 10 con la toxicidad por diclofenaco. Una colaboración internacional en la que han participado Estados Unidos, Reino Unido y España, ha permitido la realización de un GWAS en 240 pacientes poniendo de manifiesto la importancia de la variabilidad étnica en la respuesta. Dentro de la clase III el papel más relevante podrían desempeñarlo el MHC de clase I de cadenas relacionadas A y B (MICA/B). Se desconoce la participación del sistema inmune innato a través de las células natural killer (NK) en los mecanismos de daño hepático tóxico. En modelo animal de toxicidad por paracetamol las células NK son cruciales en la participación del sistema inmune innato. (Kaplowitz 2005)

Para desarrollar su función, los genes de HLA clase A, B, C y MICA necesitan interactuar con receptores específicos presentes en los linfocitos NK. Las MICA/B son glicoproteínas que se expresan en la membrana de las células en respuesta al estrés celular (podría ser en respuesta a un fármaco o a metabolitos reactivos) y carecen de la función de presentador de antígenos, encargándose de la activación de las células NK y de los linfocitos T CD8+ (Zwirner, Fuertes, et al. 2007). El balance entre señales despertadas en las células NK por sus respectivos ligandos determinará finalmente su respuesta biológica. Estos receptores se clasifican en función de su estructura: la familia de lecitina tipo C a la que pertenece el receptor G2D (*G2D natural killer group 2 member D*, NKG2D) que une moléculas denominadas MICA/B codificadas dentro de la región HLA y también a las proteínas ULBP1-4. La unión de MICA/B (HLA clase III) y el receptor NKG2D activa a las células NK y coestimula a las células T CD8+ aumentando su habilidad citotóxica y la producción de citocinas (Ogasawara and Lanier 2005). Las glicoproteínas MICA/B presentan un gran número de polimorfismos. En la secuenciación del gen MICA se identificó un polimorfismo de repetición (microsatélite) de tripletes (GCT), consistiendo en 4, 5, 6 o 9 repeticiones de GCT o 5 repeticiones con la inserción de un nucleótido (GCT→GGCT) denominado MICA 5.1, resultando en una terminación prematura por la aparición de un stop codón, lo que da lugar a una molécula incapaz de anclarse a la membrana (Mizuki, Ota, et al. 1997). Individuos homocigóticos para este polimorfismo presentan en su membrana una ausencia total de esta proteína (Kennedy, Naipal, et al. 2002). Estos cambios en la secuencia de los aminoácidos de la glicoproteína influyen en la afinidad de la interacción con el NKG2D (Munoz-Saa, Cambra, et al. 2006). Estos datos sugerirían que variaciones genéticas en la relación receptor-ligando NKG2D/MICA jugarían un papel significativo en la respuestas del sistema inmune e inflamatoria en el hígado.

Por otra parte, existen variedades de DILI con manifestaciones de autoinmunidad, que en algunos casos pueden auto perpetuarse tras la retirada del fármaco. Esta circunstancia dificulta la diferenciación entre una hepatitis autoinmune clásica y una hepatitis autoinmune despertada por el fármaco, y entre esta última y lo que sería un DILI con manifestaciones de autoinmunidad (DILI-AIH) (Lucena et al, 2011). Aunque la hepatitis autoinmune clásica característicamente se asocia a ciertos alelos HLA, se desconoce el status HLA de pacientes

con DILI y manifestaciones de autoinmunidad, y este análisis podría contribuir a diferenciar estas distintas variantes de DILI.

La investigación de variaciones funcionales en esta región del cromosoma 6 abre pues una vía de enorme interés, tanto para la mejor comprensión de los complejos mecanismos que se interrelacionan en la producción de daño hepático de origen tóxico, como para la identificación de sujetos susceptibles.

Objetivos:

Linea de Investigación Farmaco-epidemiológica

Mantener el Registro Español de Hepatotoxicidad (www.spanishdili.uma.es)

Identificar y diagnosticar casos de hepatotoxicidad

Introducir información inicial y de seguimiento de los casos en la base de datos.

Mantenimiento de un biobanco

Establecimiento de una Red Andaluza para el Estudio de las Hepatopatías tóxicas, virales y metabólicas (NASH). La creación de esta red a nivel autonómico:

-Facilitará la adopción de criterios unificados y consensuados que permitirán trabajar de forma colaborativa.

-Caracterizará mejor a los sujetos susceptibles y permitirá la comprensión de los mecanismos de lesión para validar biomarcadores específicos.

-Definirá dianas y estructuras que hagan factible el diseño de fármacos más seguros y una terapéutica individualizada.

-Desarrollará nuevas herramientas diagnósticas y tecnológicas: pruebas in vitro, ensayos y plataformas.

La identificación precoz de factores de riesgo de desarrollar Fallo Hepático Fulminante en pacientes con hepatotoxicidad y hepatitis agudas de otros orígenes (hepatitis aguda A, B, debut hepatitis autoinmune).

Identificar parámetros clínicos y genéticos que condicionen un riesgo acumulado de desarrollar hepatotoxicidad por amoxicilina clavulánico según fenotipo de presentación del daño.

Morbimortalidad a largo plazo de causa hepática y susceptibilidad a la hepatotoxicidad en pacientes con antecedentes de hepatotoxicidad idiosincrásica. Se estudiará una amplia cohorte de pacientes diagnosticados de DILI, procedentes de la provincia de Málaga, Sevilla y Albacete y Barcelona incluidos en el Registro Español y en los que haya transcurrido un mínimo de 5 años desde el episodio de hepatotoxicidad.

Establecimiento de un punto de cohorte de cronicidad en DILI y análisis de factores de riesgo. Para una definición de cronicidad basada en un estudio específicamente diseñado para ello. Gracias a la amplia cohorte de pacientes seguidas durante años con la colaboración de más de 40 centros hospitalarios en toda España y entre ellos varios grupos CIBERehd, podremos establecer los factores del huésped y del fármacos que influyen en el mantenimiento del daño tras el inicio de un episodio de DILI.

Colangitis autoinmune idiopáticas precipitados por fármacos

Analizar los fenotipos de las colestasis de origen tóxico y las colangitis autoinmune idiopáticas en función de presentación clínica, gravedad y evolución

- Estudiar la exposición previa a fármacos de los pacientes con colangitis autoinmune idiopática, evaluando la frecuencia y tipo de fármacos

Colaboración con el grupo de Dr. Albert Parés, Hospital Clinic, Barcelona

Mantenimiento y desarrollo del Registro Español-Latinoamericano de Hepatotoxicidad (www.slatindili.uma.es)

Creación y desarrollo de un Registro Europeo de Hepatotoxicidad (Pro-EuroDILI Registry), subvencionado por un Grant de la European Association for the Study of the Liver (EASL). Se recogerá una valiosa información clínica y epidemiológica además de muestras biológicas.

Línea de Investigación de los mecanismos de daño hepático

Marcadores inmunopatológicos de evolución de las hepatitis tóxicas. Un estudio sobre biopsia humana. Es necesario el estudio de nuevas dianas que funcionen como marcadores predictivos y de evolución de la hepatotoxicidad. Una de nuestras dianas de estudio es el sistema endocannabinoide que regula la respuesta inmune.

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE VARIACIONES GÉNICAS EN LOS RECEPTORES KIR Y NKG2D Y SUS LIGANDOS, HLA A, B, C Y MICA DE LAS CÉLULAS NK EN LA HEPATOTOXICIDAD POR AMOXICILINA-CLAVULÁNICO.

ESTUDIO DEL **COMPLEJO HLA** Y LA SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR HEPATOTOXICIDAD: **ANÁLISIS SEGUN FENOTIPO DEL DAÑO Y PRESENCIA DE AUTOINMUNIDAD**

Existen variedades de DILI con manifestaciones de autoinmunidad, que en algunos casos pueden auto perpetuarse tras la retirada del fármaco. Esta circunstancia dificulta la diferenciación entre una hepatitis autoinmune clásica y una hepatitis autoinmune despertada por el fármaco, y entre esta última y lo que sería un DILI con manifestaciones de autoinmunidad (DILI-AIH) (Lucena et al, 2011). Aunque la hepatitis autoinmune clásica característicamente se asocia a ciertos alelos HLA, se desconoce el status HLA de pacientes con DILI y manifestaciones de autoinmunidad, y este análisis podría contribuir a diferenciar estas distintas variantes de DILI y facilitar su diagnóstico diferencial.

El papel de la proteína HuR en daño hepático

Estudiar el nivel hepático de HuR en pacientes de hepatotoxicidad

Colaboración con Dra Malu Martinez Chantar, CIC bioGUNE, Derio

Genome wide analysis and exome sequencing of drug-induced liver injury cases

International DILI Consortium, iDILIC

Functional DILI biomarkers En colaboración con proyecto IMI

Safer and faster evidence-based translation,

SAFE-T, IMI

Muestras biológicas seriadas durante la fase aguda del episodio en paciente y controles pareados expuestos al fármaco para futuros estudios de nuevos biomarcadores de daño hepático y ensayos clínicos Registro Europeo de DILI idiosincrásico (Pro-EuroDILI Registry, EASL Registry Research Grant)

Necesidad de coordinación multicéntrica:

El proyecto requiere un notable esfuerzo de coordinación. De una parte entre los centros del CIBERehd que participan en la identificación fenotípica y en la captación de muestras biológicas de pacientes con hepatotoxicidad idiosincrásica y de otra con el laboratorio de Inmunología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Fundación FIBAO) en el que se van caracterizando los SNPs de los transportadores de membrana y se realiza el mapeo de la región MHC.

La coordinación con los clínicos en esta área es un punto crítico a la hora de validar los marcadores metabólicos asociados a hepatotoxicidad en muestras humanas

FUENTES COFINANCIADORAS:

FIS, Consejería de Salud de Andalucía, Agencia Española del Medicamento, Industria Farmacéutica, SAEC (Serious Adverse Events Consortium), Diputación Foral de Bizkaia.

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	Dic-2010	Identificación y caracterización fenotípica de casos bona fide de hepatotoxicidad por los centros.	Consentimiento informado, recogida de protocolos y muestras biológicas.
II	Jun-2011	Creación y cumplimentación de una base de datos electrónica.	Repositorio de muestras de ADN
III		Entrega de muestras al biobanco	Repositorio de biopsias obtenidas y muestras depositadas en el biobanco
IV	Dic-2011	Genotipado de polimorfismos de ABCB1/MDR1, ABCB11/BSEP, ABCB4/MDR3, ABCC2/MRP2 y SLCO1B1/OATP1B1.	Análisis estadístico Estrategia de agrupamiento de fármacos
V	Jun-2012	Producción científica	Elaboración de manuscrito. Presentaciones en Congresos y publicaciones
VI	Dic-2012	Realización de reuniones y teleconferencias con Latinoamérica.	Actas de teleconferencias realizadas, actividades anuales, reuniones de consenso y del comité científico.
VII	Jun-2013	Tipaje genómico DRB1 y DQB1 y HLA-A,B,C Genotipado de microsatélites Genotipado de polimorfismos	Análisis estadístico Estrategia de agrupamiento de fármacos

		TAP 1, TAP 2, LMP 2 y LMP 7	
VIII	Dic-2013	Producción científica	Elaboración de manuscrito. Presentaciones en Congresos y publicaciones
IX	Dic-2013	Formación a centros participantes en Latinoamérica.	Actividades Académicas y de formación: Realización curso formación en centros participantes. Participación en actividades de formación continuada. Master y Cursos Doctorado.
X	Dic-2013	Tipaje genómico 16 genes KIR	Análisis estadístico. Establecer relaciones receptor-ligando KIR/HLA.
XI	Jun-2014	Producción científica	Elaboración de manuscrito. Presentaciones en Congresos y publicaciones
XII	Dic-2013	Genotipado de polimorfismos gen NKG2D	Análisis estadístico.
XIII	Jun-2014	Producción científica	Elaboración de manuscrito. Presentaciones en Congresos y publicaciones
XIV	Jun-2014	Estudio de las Hepatopatías tóxicas, virales y metabólicas (NASH).	Diseño y planificación de estudios farmacoepidemiológicos y genéticos. Análisis estadístico
XV	Jun-2014	Establecimiento de la frecuencia de diagnóstico de enfermedad hepática y su naturaleza detectada en el seguimiento, en pacientes que han sufrido un episodio de hepatotoxicidad idiosincrásica en el pasado.	Diseño y planificación de estudios farmacoepidemiológicos. Estrategia de agrupamiento de fármacos. Identificación factores riesgo. Análisis estadístico
XVI	Jun-2014	Tipaje completo alelos microsatélite MICA	Análisis estadístico. Establecer relaciones receptor-ligando MICA/NKG2D.
XVII	Dic-2014	Producción científica	Elaboración de manuscrito. Presentaciones en Congresos y publicaciones
XVIII	Dic-2014	Identificación de SNPs asociados	Diseño y Planificación estudios

		<p>a respuesta a tratamiento en pacientes con hepatitis C y regiones de variabilidad genética del virus de la hepatitis C</p> <p>Identificación de nuevos SNPs asociados al desarrollo de EGNA y validación de SNPs descritos en la literatura (PNPLA3, GC1)</p>	genéticos.
XIX	Enero-2015	Trámitación del protocolo del estudio del Registro Europeo de Hepatotoxicidad en el comité de ética	Inicio del estudio
XX	Mar-2015	Finalización análisis estudio de cronicidad en DILI	Elaboración y publicación de manuscrito
XXI	Jun-2015	Puesta en marcha de Registro Europeo de hepatotoxicidad (Pro-EuroDILI Registry)	Introducción de los primeros pacientes y recogida de muestra
XXII	Dic-2015	Finalización de análisis de estudio de autoinmunidad en DILI	Elaboración y publicación de manuscrito

4. Tareas propias de los Grupos del Programa 3

A continuación se mencionan las actividades principales de investigación de los grupos del Programa 3, recogidas según los descriptores.

Grupo	Componentes	Descriptores grupo
	Total / IPs	
Unidad Hepatología, Universidad de Málaga	10 / 2	Hepatotoxicidad
Fundación IMABIS del Dr. Raúl J. Andrade		<ul style="list-style-type: none"> - Mantenimiento y desarrollo del Registro Español-Latinoamericano de Hepatotoxicidad (www.slatindili.uma.es) - Creación de Registro Europeo de hepatotoxicidad (Pro-EuroDILI Registry) - La validación de un algoritmo pronóstico de desarrollar Fallo Hepático Fulminante en pacientes con hepatotoxicidad y hepatitis agudas de otros orígenes. - Análisis de los factores de riesgo de cronicidad en DILI. Establecimiento de un punto de corte de cronicidad. - Identificar parámetros clínicos y genéticos que condicionen un riesgo acumulado de desarrollar hepatotoxicidad por amoxicilina clavulánico según fenotipo de presentación del daño. - Morbimortalidad a largo plazo de causa hepática y susceptibilidad a la hepatotoxicidad en pacientes con antecedentes de hepatotoxicidad idiosincrásica - Marcadores inmunopatológicos de evolución de las hepatitis tóxicas. Un estudio sobre biopsia humana. Búsqueda de nuevas dianas que funcionen como marcadores predictivos y de evolución de la hepatotoxicidad. Una de nuestras dianas de estudio es el sistema endocannabinoide que regula la respuesta immune. - Análisis genéticos en la población incluida en el Registro Español de Hepatotoxicidad de: - Estudio de la Influencia de Variaciones Génicas en los Receptores KIR Y NKG2D y sus Ligandos, HLA A, B, C y Mica de las Células Nk en la Hepatotoxicidad por Amoxicilina-Clavulánico. - El papel de la proteína HuR en daño hepático tóxico (colaboración con M^a Luz Martínez)

		<p>Chantar, CIC bioGUNE)</p> <ul style="list-style-type: none"> - c) Estudio del Complejo HLA y la Susceptibilidad a Desarrollar Hepatotoxicidad: Análisis según Fenotipo del Daño y Presencia de Autoinmunidad - Análisis amplio del genoma y secuenciación en proyecto conjunto con el SAE Consortium con casos de USA (“Drug-Induced Liver Injury Network”, patrocinado por los NIH), de UK (DILIGEN) y Europa (EUDRAGENE). - Identificación de biomarcadores de hepatotoxicidad en colaboración con el proyecto <i>Innovative Medicines Initiative</i> de la Unión Europea en el Proyecto: <i>Translational Safety Biomarkers for DILI, DIKI and DIVI</i> y la Industria Farmacéutica.
--	--	---

<p>UHE-La Fe, Universidad de Valencia del</p> <p>Dr. José Vicente Castell</p>	<p>9 / 5</p>	<p>Hepatotoxicidad y Trastornos Metabólicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estudios mecanísticos de hepatotoxicidad por medicamentos, con énfasis en la hepatotoxicidad idiosincrásica no predecible y la crónica. - Colestasis por medicamentos: Mecanismos implicados / Regulación de transportadores / Predicción y pronóstico de la respuesta. - Nuevos enfoques en la patogénesis de NAFLD: influencia de la microbiota e implicación de fármacos: <ul style="list-style-type: none"> a) Mecanismo toxico-transcriptómicos en la esteatosis hepática por medicamentos. b) Nuevos biomarcadores circulantes (miRNAs) de esteatosis iatrogénica en pacientes con HGNA y Síndrome Metabólico. c) Influencia de la microbiota en la patogénesis de la EHGNA. - Estudio de los mecanismos transcripcionales implicados en la etiología de la EHGNA y su implicación en la regulación del metabolismo lipídico. - Regulación del gen GNMT. Factores implicados. Relevancia del LRH1 en el control de la vía lipogénica dependiente de GNMT.
---	--------------	---

-
- Implicación del receptor de vitamina D (VDR) en el hígado graso no alcohólico. Mecanismos.
-

IIBB-CSIC/IDIBAPS,
Barcelona del

11 / 6

Trastornos Metabólicos y Colestasis

Dr. José Carlos
Fernández-Checa

- Caracterización del patrón lipídico en la lipotoxicidad de ASH/NASH.
- Papel del colesterol mitocondrial en ASH/NASH.
- Delección específica de StARD1 en hígado.
- Mecanismos moleculares de activación de StARD1 en ASH/NASH.
- Caracterización de ASMasa en ASH/NASH.
- Convergencia entre ASMasa y MAT1A y papel en ASH/NASH.
- Caracterización del patrón de esfingolípidos en modelos y pacientes con HCC.
- Modulación de la quimioterapia por esfingolípidos en HCC.
- Papel de los esfingolípidos en la regeneración hepática.

Instituto de Biome-
dicina de León del

8 / 6

Trastornos Metabólicos y Hepatotoxicidad

Dr. Javier González
Gallego

- Nuevos enfoques en la patogénesis de EHGNA: influencia de la microbiota e implicación de fármacos.
 - a) Estudio de los mecanismos relacionados con la alteración de la microbiota intestinal en el desarrollo del hígado graso no alcohólico. Eje intestino-hígado.
 - b) Efecto del trasplante de microbiota intestinal sobre el desarrollo de EHGNA. Caracterización del microbioma como fenotipo metabólico.
 - c) Estudio del papel de distintos fármacos en el desarrollo de hígado graso no alcohólico.
 - Relación entre estrés oxidativo/nitrosativo, vías de señalización celular, ciclo celular, apoptosis y fibrogénesis.
-

- Posible utilidad terapéutica de moléculas antioxidantes en modelos de patologías hepáticas y gastrointestinales.
- Estudio de la modulación de la autofagia y la apoptosis por melatonina en patologías hepáticas (colaboración con Dr. Fernández-Checa).

Modelo animal de fallo hepático fulminante (FHF) por infección por el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo para definir los mecanismos patogénicos en FHF y el desarrollo de posibles opciones terapéuticas.

Grupo	Componentes	Descriptor grupo
	Total / IPs	
CIC bioGUNE, Vizcaya del	10 / 6	Trastornos Metabólicos
Dr. José María Mato		<ul style="list-style-type: none"> - Implicación de la Nedilización en el desarrollo de NAFLD y cirrosis. Importancia de la proteína mitocondrial MCJ en el desarrollo de NAFLD y cirrosis. - Papel de la proteína de unión a RNA, HuR, en la esteatosis y la cirrosis hepática. - Papel de la proteína mitocondrial Prohibitina 1 en la enfermedades colestásicas. - Funcionalidad de Sirt en la cirrosis biliar primaria. - Implicación de la autofagia y actividad de los lisosomas en la esteatosis hepática. - Implicación del sistema inmune innato durante la progresión de NASH en ausencia del gen GNMT. - Papel de SAME en el metabolismo de triglicéridos y desarrollo de NAFLD. Importancia del flujo fosfatidiletanolamina /fosfatidilcolina. - Caracterización Ómica de los exosomas liberados en NAFLD. - Análisis preliminar de la partículas infecciosas del virus de Hepatitis C por microscopía electrónica.

CIMA, Universidad de Navarra del	8 / 3	CBP (Colestasis):
Dr. Juan F. Medina		<ul style="list-style-type: none"> - Papel etiopatogénico de las alteraciones de AE2 en la CBP. - Modificaciones epigenéticas en AE2. - Papel del UDCA y otros ácidos biliares en la regulación del gen AE2 y actividad AE. - Análisis del fenotipo hepático e inmunológico en ratones <i>knockout</i> de Ae2: <ul style="list-style-type: none"> a) transición epitelio-mesénquima en colangiocitos. b) activación de los linfocitos. - Ácidos biliares y metabolismo del óxido nítrico. - Desarrollo de un modelo de ratón <i>knockout</i> condicional de Ae2 en colangiocitos y linfocitos. - Estudio de la actividad AE2 en linfocitos humanos. - Estudio del purinoma en colangiocitos.

Grupo	Componentes	Descriptor grupo
	Total / IPs	
Hospital Clinic, Barcelona del	8 / 5	CBP (Colestasis):
Dr. Albert Parés		<ul style="list-style-type: none"> - Epidemiología. - Evaluación proteómica y metabolómica de los mecanismos responsables del prurito. - Niveles de autotaxina, prurito, duración de la enfermedad e intensidad de la colestasis en la CBP. - Bilirrubina, ácidos biliares y actividad osteoblástica. - Factores de riesgo de fractura, profilaxis y tratamiento. - Criterio unificado de respuesta terapéutica al

		UDCA. - UDCA y potencial de nuevos fármacos. - Factores genéticos asociados a la colangitis esclerosante primaria. - Historia natural y pronóstico de la colangitis esclerosante primaria.
IIBM-CSIC/UAM, Madrid de la	4 / 3	Trastornos Metabólicos
Dra. Paloma Martín Sanz		- Papel de las PGs producidas por COX-2 en el desarrollo de EHGNA. - Modelo transgénico con expresión constitutiva y/o condicional de COX-2 en el hepatocito. - Modelo GNMT-KO/Tg-COX-2: a) Resistencia a insulina. b) Esteatohepatitis c) Fibrosis d) Mecanismos moleculares: regulación por miRNAs. e) Expresión de COX-2 y niveles de PGs en pacientes con EHGNA. - Papel de la hipoxia en la disfunción mitocondrial de la EHGNA. - Mecanismos implicados en la transición de la esteatosis a la EH no alcohólica (EHNA/EHGNA): autofagia y estrés del retículo.

*El grupo de la Dra. P. Martín Sanz (PMS) es un grupo asociado al CIBERhd.

5. Anexo: Prolongación de la Acción Estratégica iniciada desde 2010 con base en las plataformas tecnológicas del CIC bioGUNE (grupo del Dr. J.M. Mato)

1.1 Area 3.

- Empleo de la Metabolómica para el diagnóstico no invasivo de pacientes con hipertensión portal idiopática (con los Dres. J.C. García-Pagan y J. Bosch).
- Pacientes alcohólicos y su progresión hacia la cirrosis: biomarcadores metabólicos predictivos (con el Dr. J. Caballería).
- Marcadores metabólicos en el diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Empleo de la tecnología Resonancia Magnética Nuclear para la identificación de marcadores de NAFLD en orina.

Programa 4: Inmunología hepática, terapia celular y trasplante.

Coordinador: M. Navasa

Coordinador adjunto: M. Berenguer

INTRODUCCION

A pesar de que el Programa 4 abarca diversas temáticas, su área de investigación principal es el trasplante hepático. En la actualidad se realizan unos 15.000 trasplantes hepáticos anuales en el mundo, con resultados satisfactorios en términos de supervivencia de los pacientes receptores de trasplante: alrededor del 90% al año del trasplante, 75% a los 5 años, y 65% a los 10 años. No obstante, el trasplante hepático sigue presentando una serie de problemas clínicos importantes, que se describen a continuación.

Los pacientes con trasplante hepático deben recibir tratamiento inmunosupresor para prevenir el rechazo del órgano trasplantado. Ello implica la necesidad de conocer de forma precisa los mecanismos de respuesta inmuno-específica contra el aloinjerto y su modulación mediante la inmunosupresión farmacológica. Desde hace muchos años, estos temas son objeto de investigación prioritaria en el trasplante de órganos. Por otra parte, el tratamiento inmunosupresor ha de administrarse de forma muy prolongada, generalmente de por vida, lo que se asocia a una depresión de la inmunovigilancia fisiológica, a un riesgo aumentado de infección y tumores, y a un riesgo de efectos secundarios adversos específicos de cada producto inmunosupresor particular, que principalmente ocurren a nivel renal, metabólico y cardiovascular. Todas estas complicaciones tienen gran impacto en la morbi-mortalidad de los pacientes trasplantados. Ello ha conducido a que, en la actualidad, los tres aspectos más relevantes de la inmunosupresión sean los siguientes: a) su optimización para adecuarla a las necesidades de cada paciente con objeto de reducir el riesgo de rechazo y de toxicidad; b) la posibilidad de la retirada completa de la inmunosupresión en pacientes tolerantes con su injerto, que podrían representar una proporción notable de pacientes trasplantados una vez transcurridos varios años desde del trasplante, y c) la detección y manejo adecuados de las complicaciones de los inmunosupresores. Estos aspectos son objeto de investigación por parte del Programa 4.

Otro problema importante en el trasplante hepático consiste en la recidiva de la enfermedad pre-trasplante, especialmente la hepatitis C. La gran relevancia de la recidiva de hepatitis C radica, por un lado, en el elevado número de pacientes receptores de trasplante por hepatopatías relacionadas con el virus C y, por otro, al fuerte impacto negativo de la recidiva de hepatitis C sobre la supervivencia post-trasplante debido a la rápida progresión de la lesión hepática en el injerto en una proporción notable de pacientes trasplantados. La investigación de los mecanismos lesionales en la recidiva de hepatitis C y el manejo terapéutico de los pacientes con esta complicación constituyen líneas de investigación de gran interés en la actualidad, especialmente en el contexto actual de desarrollo y comercialización de nuevos y

potentes agentes virales. Por ello, el Programa 4 también se ocupa de forma preferente de la investigación de este problema.

Finalmente, hay que destacar que existe una gran desproporción entre el número de donantes de órganos y el número de pacientes en lista de espera de trasplante hepático. Por ello, a lo largo de los últimos años, por un lado, se han ido implementando una serie de acciones dirigidas a paliar este problema mediante la investigación de estrategias que permitan incrementar el número de injertos hepáticos adecuados para trasplante, y, por otro, se han realizado mejoras en la gestión de la lista de espera para trasplante. Estos aspectos también son motivo de investigación de los grupos del Programa 4.

GRUPOS PARTICIPANTES EN EL PROGRAMA 4

En la anualidad 2015, el Programa 4 constará de los cuatro grupos siguientes:

IP del grupo:	Centro:	Localidad:
Marina Berenguer	Hospital Universitario La Fe	Valencia
Manuel de la Mata	Hospital Universitario Reina Sofía	Córdoba
Miguel Navasa	Hospital Clínico y Provincial	Barcelona
Grupo vinculado:		
Rocío Alvarez	Hospital Virgen de la Arrixaca	Murcia

DESCRIPTORES DE ACTIVIDAD DE LOS GRUPOS DEL PROGRAMA 4

GRUPO	DESCRIPTORES DE ACTIVIDAD
Berenguer	Recidiva hepatitis C Complicaciones de la inmunosupresión
De la Mata	Respuesta aloinmune e inmunosupresión Lesión por isquemia-reperfusión

	<p>Recidiva hepatitis C</p> <p>Complicaciones de la inmunosupresión</p>
Navasa	<p>Respuesta aloinmune e inmunosupresión</p> <p>Lesión por isquemia-reperfusión</p> <p>Recidiva hepatitis C</p> <p>Complicaciones de la inmunosupresión</p>
Alvarez	<p>Respuesta aloinmune e inmunosupresión</p>

GRANDES LINEAS DE INVESTIGACION DEL PROGRAMA 4

Las grandes líneas de investigación del Programa 4 son:

1. Respuesta inmune contra el aloinjerto y su modulación mediante la inmunosupresión.
2. Diagnóstico no-invasivo del rechazo hepatocelular.
- 3.- Isquemia reperfusión del injerto.
4. Aspectos clínicos de interés. Como se desprende de la ambigüedad de su título, esta línea incluye distintas temáticas, destacando dos de ellas: la recidiva de hepatitis C después del trasplante y las complicaciones extrahepáticas, especialmente las relacionadas con la administración de fármacos inmunosupresores.

OBJETIVOS PARA LA ANUALIDAD 2015.

Durante la anualidad 2015 el Programa 4 desarrollará distintos proyectos de investigación cooperativa. Los proyectos de mayor envergadura se exponen a continuación.

PROYECTO 1.

Título del proyecto:

Tolerancia operacional y retirada de medicación inmunosupresora en pacientes con trasplante hepático.

Grupo líder: Navasa

Investigador principal: A. Sánchez-Fueyo.

Grupos colaboradores:

Grupos del CIBEREHD: Berenguer, De la Mata, Forns, Prieto, Parrilla, Bosch

Grupos internacionales: Giuseppe Tisone (Roma), Jacques Pirenne (Lovaina), Gavin Whitehouse (London), Frans Claas (Leiden).

Antecedentes:

Existe una proporción notable de pacientes con trasplante hepático que pueden abandonar la medicación inmunosupresora sin presentar rechazo. Estos pacientes se consideran tolerantes con sus injertos. Hasta la fecha no existía ningún test que permitiese identificar a los individuos tolerantes antes de retirar la medicación inmunosupresora. Recientemente, el grupo del Dr. Rimola del CIBEREHD, Programa 4, en colaboración con la empresa de biotecnología TcLand Expression SA, ha desarrollado un test transcripcional de tolerancia que podría tener utilidad en la identificación de pacientes tolerantes. Este test se realiza con células mononucleares de sangre periférica. La finalidad fundamental del presente proyecto es identificar a pacientes que presentan los biomarcadores transcripcionales de tolerancia y aleatorizarlos a abandonar el tratamiento inmunosupresor o a mantenerlo. Asimismo, el proyecto también pretende investigar el valor de biomarcadores en tejido hepático en la identificación del estado de tolerancia.

Objetivos:

1. Determinar la capacidad predictiva de un test transcripcional de tolerancia a partir de células mononucleares de sangre periférica para identificar pacientes que pueden abandonar la medicación inmunosupresora.
2. Establecer los beneficios clínicos de la retirada de la medicación inmunosupresora en pacientes identificados como tolerantes en base al test transcripcional mencionado, especialmente en términos de mejoría de la función renal y diversos factores de riesgo cardiovascular.
3. Investigar el impacto que pueda tener la infección crónica por VHC en pacientes trasplantados con recidiva de hepatitis C sobre la retirada de medicación inmunosupresora.
4. Analizar el perfil de expresión genética en tejido hepático con objeto de identificar de forma aún más precisa a los pacientes tolerantes con su injerto.

Fuentes cofinanciadoras:

1. Roche Organ Transplantation Research Foundation.
2. Fondos procedentes del consorcio Reprogramming the Immune System for Establishment of Tolerance (RISET), Sixth Framework Programme, European Union.
3. Fondos procedentes del consorcio Immune Tolerance Network (ITN), Estados Unidos.
4. Además, de 2008 a 2011 se obtuvo un contrato con una empresa biomédica, TcLand Expression, S.A., Nantes (Francia).

Período de realización: 2008 - 2017.

Fases del proyecto, hitos y entregables (los correspondientes a la anualidad 2015 se marcan en sombreado gris):

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	2008	Diseño del protocolo	Protocolo
I	2008	Aceptación por los Comités de Ética de los centros participantes	Informes de los Comités de Ética
II	2008-2012	Inclusión de pacientes y elaboración de una base de datos	Base de datos
III	2011-2015	Finalización de estudios de expresión génica con microarrays y de seguimiento clínico. En pacientes con VHC: finalización de estudios de reconstitución inmune anti-VHC tras retirar la inmunosupresión	Informes de resultados
III	2011-2015	Análisis de los resultados	Informes estadísticos de los resultados
IV	2011-2015	Elaboración de manuscritos para enviar para publicación	Manuscritos
IV	2011-2016	Publicación de estudios	Publicaciones

Comentario: Proyecto de muy larga duración, siguiendo las fases previstas.

Publicaciones originales derivadas del proyecto:

Puig-Pey I, Bohne F, Benítez C, López M, Martínez-Llordella M, Oppenheimer F, Lozano JJ, González-Abraldes J, Tisone G, Rimola A, Sánchez-Fueyo A. Characterization of $\gamma\delta$ T cell subsets in organ transplantation. *Transpl Int* 2010; 23:1045-55.

Benítez CE, Puig-Pey I, López M, Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Bohne F, Londoño MC, García-Valdecasas JC, Bruguera M, Navasa M, Rimola A, Sánchez-Fueyo A. ATG-Fresenius treatment and low-dose tacrolimus: results of a randomized controlled trial in liver transplantation. *Am J Transplant* 2010; 10: 2296-304.

Brouard S, Puig-Pey I, Lozano JJ, Pallier A, Braud C, Giral M, Guillet M, Londoño MC, Oppenheimer F, Campistol JM, Souillou JP, Sanchez-Fueyo A. Comparative transcriptional and phenotypic peripheral blood analysis of kidney recipients under cyclosporin A or sirolimus monotherapy. *Am J Transplant*. 2010; 10: 2604-14.

Lozano JJ, Pallier A, Martinez-Llordella M, Danger R, López M, Giral M, Londoño MC, Rimola A, Souillou JP, Brouard S, Sánchez-Fueyo A. Comparison of transcriptional and blood cell-phenotypic markers between operationally tolerant liver and kidney recipients. *Am J Transplant* 2011; 11: 1916-26.

Danger R, Pallier A, Giral M, Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Degauque N, Sanchez-Fueyo A, Souillou JP, Brouard S. Upregulation of miR-142-3p in peripheral blood mononuclear cells of operationally tolerant patients with a renal transplant. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 597-606.

Bohne F, Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Miquel R, Benítez C, Londoño MC, Manzia TM, Angelico R, Swinkels DW, Tjalsma H, López M, Abraldes JG, Bonaccorsi-Riani E, Jaeckel E, Taubert R, Pirenne J, Rimola A, Tisone G, Sánchez-Fueyo A. Intra-graft expression of genes involved in iron homeostasis predicts the development of operational tolerance in human liver transplantation. *J Clin Invest* 2012; 122: 368-82.

Benítez C, Londoño MC, Miquel R, Manzia TM, Abraldes JG, Lozano JJ, Martínez-Llordella M, López M, Angelico R, Bohne F, Sese P, Daoud F, Larcier P, Roelen DL, Claas F, Whitehouse

G, Lerut J, Pirenne J, Rimola A, Tisone G, Sánchez-Fueyo A. Prospective multicenter clinical trial of immunosuppressive drug withdrawal in stable adult liver transplant recipients. *Hepatology* 2013 [Epub ahead of print].

PROYECTO 2.

Título del proyecto:

Biomarcadores en el diagnóstico del rechazo celular agudo y en la diagnóstico diferencial con la recurrencia grave de la hepatitis C tras el trasplante hepático.

Grupo líder: M. Navasa

Investigador principal: M.Navasa

Grupos colaboradores: Forns

Grupos del CIBEREHD:

Grupos nacionales ajenos al CIBEREHD:

Antecedentes:

El rechazo agudo es una de las complicaciones más frecuentes del trasplante de órganos, y su incidencia se estima en un 20-30% en receptores de trasplante hepático. La selección del régimen inmunosupresor de cada paciente no se realiza de forma personalizada, sino que se basa en pautas comunes, incluyendo en general un inhibidor de calcineurina y esteroides. Además, debido a que cuantificar la inmunosupresión real de los pacientes es complicado y se estima en función de marcadores indirectos como los niveles sanguíneos de los fármacos inmunosupresores, la dosificación de estos fármacos no se realiza en base a la aloreactividad inmune de cada paciente, sino en función de los niveles y de la aparición de efectos adversos relacionados con los mismos. Esta situación provoca que haya pacientes sobre o infra-inmunodeprimidos, con las consiguientes consecuencias de estas situaciones.

Recientemente se ha reportado la capacidad de ciertos biomarcadores, entre ellos los microRNAs (miRNAs), polimorfismos genéticos y algunas citoquinas como IL9, en el diagnóstico y la predicción del rechazo agudo en el trasplante renal. La información de que se dispone en este sentido en el trasplante hepático es, sin embargo, mucho más escasa. Es probable que la metabonómica, que estudia cambios en los niveles de metabolitos (por

ejemplo, como respuesta al tratamiento inmunosupresor) sea útil como biomarcador de la probabilidad de rechazo.

La predicción de la probabilidad de rechazo es importante, ya que idealmente permitiría individualizar la inmunosupresión de los pacientes evitando situaciones de sobreinmunosupresión en aquellos pacientes en los que las probabilidades de rechazo son bajas y ajustando la medicación de manera intensa en aquellos proclives a rechazar. Por otra parte, encontrar biomarcadores diagnósticos de la presencia o gravedad del rechazo permitiría mejorar el diagnóstico del mismo, que actualmente se basa en la realización de una biopsia hepática. Aparte de las complicaciones inherentes a la biopsia hepática como procedimiento invasivo, se ha de destacar que el diagnóstico histológico del rechazo es difícil, ya que sus hallazgos patológicos en muchos casos no son específicos y se solapan con los encontrados en pacientes con recurrencia de la hepatitis C después del trasplante hepático, que es la situación más frecuente a la que nos enfrentamos en el trasplante hepático.

Objetivos:

- Evaluar un panel de biomarcadores serológicos en la diferenciación entre rechazo agudo y recurrencia de la hepatitis post trasplante hepático.

- Estudiar si alguno de los biomarcadores evaluados permite predecir la respuesta al tratamiento del rechazo celular

- Determinar si estos biomarcadores permiten identificar precozmente a los pacientes con recurrencia grave de la hepatitis C tras el trasplante hepático.

Fuentes cofinanciadoras:

FISS 2014

Beca Fundación Mutua Madrileña 2014

Premio Fin de Residencia Hospital Clinic Barcelona.

Período del estudio: 2014 - 2017

Fases del proyecto, hitos y entregables (los correspondientes a la anualidad 2015 se marcan en sombreado gris):

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	2014	Diseño del protocolo de estudio y elaboración de una base de datos	Protocolo escrito del proyecto y base de datos
I	2014	Aprobación por parte de los Comités Éticos de cada centro	Aprobación de los Comités Éticos
II	2015-2017	Inclusión de pacientes	Hojas de recogida de datos y base de datos
III	2017	Análisis de resultados	Reporte de resultados
IV	2017	Redacción de manuscrito y envío para su publicación	Publicación

PROYECTO 3.

Título del proyecto:

Efecto de la muerte cerebral en hígados esteatósicos y no esteatósicos sometidos a trasplante.

Grupo líder del IDIBAPS: Carmen Peralta Uroz

Investigador principal: Carmen Peralta Uroz

Grupos colaboradores:

Grupos del CIBEREHD: Navasa, Bosch

Grupos internacionales: F. Ramalho (Brasil), Casillas-Ramirez (México)

Antecedentes:

La mayoría de injertos hepáticos que se utilizan para trasplante proceden de donantes cadavéricos-donantes con muerte cerebral-un factor de riesgo importante en el trasplante hepático. La muerte cerebral induce una respuesta inflamatoria hepática que afecta la calidad del injerto a trasplantar e incide negativamente en los resultados post-trasplante. La falta de órganos para trasplante ha derivado en la utilización de hígados esteatósicos. Por otro lado, los injertos hepáticos esteatósicos procedentes de donantes cadavéricos presentan poca tolerancia a la isquemia-reperfusión y un mayor riesgo de disfunción o fallo primario del injerto tras realizar el trasplante, comparado con los injertos hepáticos no esteatósicos procedentes de donantes con muerte cerebral. Los datos clínicos preliminares sobre la eficacia del preconditionamiento isquémico (PC) en el trasplante hepático en la protección de los injertos esteatósicos y no esteatósicos frente a la lesión inducida por la isquemia-reperfusión no son tan alentadores como los obtenidos en animales de experimentación. Por otra parte, es necesario considerar que el PC se ha aplicado en la clínica en injertos hepáticos procedentes de donantes cadavéricos sin previos estudios experimentales que evalúen como afecta la muerte cerebral a ambos tipos de injertos y a los efectos del PC.

Objetivos:

1. Evaluar si la muerte cerebral agrava la lesión inducida por I/R en trasplante hepático y empeora los resultados post-trasplante. Se evaluará si los efectos nocivos derivados de la muerte cerebral son más evidentes en los injertos hepáticos esteatósicos que en los no esteatósicos.
2. Evaluar si la respuesta inflamatoria hepática derivada de la muerte cerebral no permite que el PC pueda proteger ambos injertos hepáticos frente a un subsiguiente periodo de isquemia fría-reperfusión, inherente al trasplante.
3. Evaluar el papel de las adipocitoquinas como la visfatina, resistina y adiponectina en injertos hepáticos esteatósicos y no esteatósicos sometidos o no a PC. Los resultados se compararon con aquellos encontrados en presencia de muerte cerebral.
4. Evaluar si el tratamiento con reguladores de la vía del TLR4 en injertos hepáticos esteatósicos y no esteatósicos, es capaz de reducir la respuesta inflamatoria hepática ocasionada por la muerte cerebral y de mejorar en consecuencia los resultados post-trasplante

Fuentes cofinanciadoras:

1. Proyecto SAF2012-31238 del Ministerio de Economía y Competitividad. BFU2009-07410 del Ministerio de Ciencia e Innovación

Período de realización del estudio: 2013 - 2016.

Fases del proyecto, hitos y entregables (los correspondientes a la anualidad 2015 se marcan en sombreado gris):

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	2013	Diseño del protocolo	Protocolo
I	2013	Aceptación por los Comités de Ética de los centros participantes	Informes de los Comités de Ética
II	2013-2015	Realización grupos experimentales y determinaciones bioquímicas	Recogidas de datos
III	2014-2015	Análisis de los resultados	Informes de los resultados
IV	2014-2016	Elaboración de manuscritos para su publicación	Manuscritos

Publicaciones originales derivadas del proyecto (2013):

1. Jiménez-Castro M.B., Elias-Miró M., Peralta C. Neurological complications in liver transplantation. Nova Science Publishers, INC – Liver Failure: Etiologies, neurological complications and emerging therapies. ISBN: 978-1-62808-507-5. Pp. 15-44, 2013.
2. Elias-Miró M., Jiménez-Castro M.B., Rodés J., Peralta C. Current knowledge on oxidative stress in hepatic ischemia/reperfusion. Free Radical Research Vol. 47(8), pp. 555-68, 2013. (doi:10.3109/10715762.2013.811721). Índice de Impacto: 3.279
3. Peralta C., Jiménez-Castro M.B., Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu. *Journal of Hepatology* 2013;59:1094-1106. Índice de Impacto: 9.858
4. Casillas-Ramírez A., Jiménez-Castro M.B., Massip-Salcedo M., Elias-Miró M., Peralta C. Mecanismos de protección de estrategias terapéuticas basados en la inhibición de PPAR en el trasplante de hígados esteatósicos. *Evidencia Medica e Investigación en Salud*. 2013;6(2):47-54.
5. Jiménez-Castro M.B., Casillas-Ramírez A., Mendes-Braz M., Massip-Salcedo M., Gracia-Sancho J., Elias-Miró M., Rodés J., Peralta C. Adiponectin and resistin protect steatotic livers undergoing transplantation. *Journal of Hepatology* 2014;59:1208-1214. Índice de Impacto: 9.858
6. Elias-Miró M., Mendes-Braz M., Cereijo R., Villarroya F., Jiménez-Castro M.B., Gracia-Sancho J., Guixé-Muntet S., Massip-Salcedo M., Carles Domingo J., Bermudo R., Rodés J.,

Peralta C. Resistin and visfatin in steatotic and nonsteatotic livers in the setting of partial hepatectomy under ischemia-reperfusion. *Journal of Hepatology* Aug 19, 2013. (doi:pii:S0168-8278(13)00595-3. 10.1016/j.jhep.2013.07.041). Índice de Impacto: 9.858

7. Mendes-Braz M., Elias-Miró M., Kleuser B., Fayyaz S., Jiménez-Castro M.B., Massip-Salcedo M., Gracia-Sancho J., Ramalho F., Rodés J., Peralta C. The effects of glucose and lipids in steatotic and nonsteatotic livers in condition of partial hepatectomy under ischemia - reperfusion. *Liver International* 2013. (doi:10.1111/liv. 12348). Índice de Impacto: 3.870

PROYECTO 4.

Título del proyecto:

Control terapéutico de la diabetes en pacientes con trasplante hepático

Grupo líder: Berenguer

Investigador principal: M. Berenguer

Grupos colaboradores:

Grupos del CIBEREHD: De la Mata, Parrilla.

Grupos nacionales ajenos al CIBEREHD: T. Serrano (Zaragoza), JI Herrero (Pamplona)

Antecedentes:

En la actualidad, el trasplante hepático (TH) se ha convertido en un gran éxito con una elevada supervivencia a corto plazo. Debido a ello, los estudios actuales muestran una tendencia a investigar los resultados a largo plazo del TH y la calidad de vida de este grupo poblacional. Para ello, es importante tener como principal enfoque el impacto de las comorbilidades, tales como la diabetes y el síndrome metabólico, con el fin de minimizar su efecto y mejorar la supervivencia a largo plazo. De estas comorbilidades, asociadas a un impacto negativo en el injerto a largo plazo, la diabetes mellitus post-trasplante es la más estudiada.

La prevalencia global de la diabetes en el paciente trasplantado se estima entre 7% y 31%. Los factores de riesgo más frecuente asociados son la infección por VHC, el uso de corticoides, el tipo de inmunosupresión, el índice de masa corporal y el sexo masculino. La diabetes post-trasplante se ha asociado a un aumento de la tasa de rechazo e infecciones y de mortalidad. Además, en el subgrupo de pacientes trasplantados por VHC, la diabetes parece ser un factor de importancia significativa en la recurrencia post-trasplante y fibrosis del injerto resultante. Finalmente, la diabetes constituye un factor importante de riesgo de enfermedad cardiovascular, la cual, a su vez, es la segunda o tercera causa de muerte en el post-trasplante

tardío. De ahí la importancia capital que tiene el buen control terapéutico de la diabetes en estos pacientes. Sin embargo, no existe información al respecto. Por ello, el presente proyecto pretende investigar el grado de control terapéutico de la diabetes post-trasplante hepático, así como los factores que se asocian a un buen control.

Objetivo:

Evaluar el grado de control terapéutico de la diabetes mellitus en pacientes con trasplante hepático e identificar los factores que se asocian al mismo. .

Fuentes cofinanciadoras: a definir.

Período del estudio: 2013 - 2015

Fases del proyecto, hitos y entregables (los correspondientes a la anualidad 2015 se marcan en sombreado gris):

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	2013	Diseño del protocolo de estudio y elaboración de una base de datos	Protocolo escrito del proyecto y base de datos
I	2013	Aprobación por parte de los Comités Éticos de cada centro	Aprobación de los Comités Éticos
II	2013-2014	Inclusión de pacientes	Hojas de recogida de datos y base de datos
III	2015	Análisis de resultados	Reporte de resultados
IV	2015	Redacción de manuscrito y envío para su publicación	Publicación

Comentario: proyecto iniciado en 2013, siguiendo las fases prevista

Programa 5: Oncología gastrointestinal y hepática

Coordinador: J. Bruix

Coordinadores adjuntos: J.J: García Marín, A, Castells

Grupos de Investigación:

- 1- **Hepatología experimental y vectorización de fármacos. Resistencia a la quimioterapia antitumoral.**
- 2- **Farmacología Molecular y Terapias Experimentales**
- 3.- **Oncología gastrointestinal y pancreática**
- 4.- **Cáncer colorrectal y esofagogástrico. Enfermedad ácido-péptica**
- 5.- **Oncología hepática**
- 6.- **Hepatología experimental y terapia génica**
- 7.- **Terapia Oncología Hepato-Bilio-Pancreática y Colorrectal**

1.- Breve introducción

Área 5.- Cáncer hepático y digestivo

Se trata de un área cuya investigación se centra en la epidemiología, mecanismos moleculares, diagnóstico y tratamiento del cáncer hepático y digestivo. Se compone de 6 grupos cuya actividad es complementaria, dado que, a pesar de compartir campo de estudio, cada grupo se focaliza en aspectos distintos.

Grupos del área

“Farmacología Molecular y Terapias Experimentales” (U. Barcelona) está liderado por el Dr. Marçal Pastor Anglada,

“Hepatología experimental y vectorización de fármacos” (U. Salamanca) por el Dr. José Juan García Marín,

“Oncología Gastrointestinal y Pancreática” (IDIBAPS) por el Dr. Antoni Castells,

“Oncología Hepática” (IDIBAPS) por el Dr. Jordi Bruix, “Hepatología Experimental y Terapia génica” (CUN) por el Dr. Bruno Sangro,

“Cáncer colorrectal” (San Sebastián) por el Dr. Luis Bujanda.

A partir de Enero de 2012 se incorpora como grupo vinculado al programa el grupo del Hospital Universitario “Virgen del Rocío” (Sevilla) dirigido por el Dr. Francisco Javier Padillo que orientó su investigación hacia las alternativas terapéuticas del cáncer hepato-bilio-pancreático y colorrectal. A partir de Enero de 2013 se incorpora al programa el grupo de la Universidad de Murcia dirigido por el Profesor Parrilla, que ha orientado su investigación hacia oncología esofágica y gástrica, con reducción de su involucración en investigación en trasplante de órganos sólidos.

2.- Grandes Líneas de Investigación

1. Papel de los transportadores de membrana en la farmacología hepática y gastrointestinal. La baja respuesta de los tumores hepáticos y gastrointestinales a la terapia farmacológica es el resultado de un fenómeno multifactorial en el que intervienen diferentes mecanismos de quimiorresistencia (MOC) que se clasifican en cinco grandes grupos según conlleven una reducción de la cantidad neta de fármaco en el interior celular por disminución de la entrada (MOC-1a) o aumento de la salida (MOC-1b), una reducción de la activación metabólica de profármacos o inactivación de fármacos (MOC-2), cambios en las dianas moleculares (MOC-3), aumento de la eficacia de procesos de reparación de macromoléculas atacadas por los citostáticos (MOC-4) y cambios en el balance entre apoptosis (MOC-5a) y supervivencia (MOC-5b). En estudios previos del CIBERehd en esta línea de investigación han identificado patrones de expresión génica característicos de cada tipo de tumor y han señalado posibles dianas que deben ser exploradas con fines terapéuticos. Entre ellas se encuentran transportadores de membrana, enzimas de fase I y factores antiapoptóticos. Junto a los cambios de expresión, la aparición de variantes genéticas propias del paciente o surgidas en el tumor durante el proceso carcinogénico pueden afectar a la función de estas proteínas y repercutir en una falta de respuesta a la quimioterapia. Como un objetivo importante para el desarrollo inmediato de esta línea de investigación se contempla la búsqueda de SNPs y “splicing” alternativos aberrantes en los genes identificados como parte de la huella genética de quimiorresistencia en tumores hepáticos y gastrointestinales. Esta línea también contempla la identificación de nuevas redes protéicas (interactoma) en las que participan transportadores de membrana, susceptibles de estar alteradas en tumores y contribuir al propio proceso oncogénico. De esta manera los transportadores de membrana pueden erigirse en biomarcadores de prognosis y respuesta terapéutica. Los estudios recientes han mostrado que la pérdida de expresión/función de transportadores de cationes orgánicos de la familia SLC22A puede ser limitante en la sensibilidad del tumor a fármacos del grupo de los TKIs. Los estudios en marcha intentan establecer una relación causa-efecto entre variantes genéticas de SLC22A y la sensibilidad al tratamiento del carcinoma hepatocelular y el colangiocarcinoma con sorafenib e identificar las bases moleculares responsables de estos cambios. Así mismo, se intenta caracterizar el papel del receptor nuclear FXR en la pérdida de capacidad defensiva de los tejidos del eje

enterohepático a los agentes genotóxicos, su papel en la carcinogénesis y su rescate y activación en el desarrollo de resistencia a la quimioterapia en tumores hepáticos e intestinales.

2. Oncología gastrointestinal y pancreática

El cáncer de origen gastrointestinal es el responsable de la mayoría de muertes relacionadas con cáncer en la población adulta. Mientras que años atrás el diagnóstico se efectuaba siempre en fases avanzadas, en la actualidad se dispone de diversas estrategias para detectar la enfermedad en fases iniciales de su desarrollo o incluso antes de la transformación maligna de lesiones preneoplásicas. Ésta es la base racional para la implantación de programas de cribado

poblacional del cáncer colorrectal, actualmente en curso y también en fase de evaluación. Además, en cáncer esofágico, se ha conseguido desarrollar una serie de miRNA como nuevos biomarcadores para predecir la aparición de adenocarcinoma en metaplasias intestinales de esófago de Barrett. En este sentido, deben establecer cuáles son las estrategias más efectivas y eficientes para el cribado en población de riesgo medio así como en los colectivos con un riesgo incrementado para el desarrollo de este tumor. Para ello es fundamental el desarrollo y evaluación de nuevos biomarcadores no invasivos que permitan incrementar la participación en los programas de cribado y vigilancia, aumentar el rendimiento diagnóstico en relación con las estrategias actualmente empleadas y disminuir las potenciales complicaciones derivadas de las mismas. Además, es importante identificar poblaciones de individuos con características genéticas o genómicas que incrementen su susceptibilidad a desarrollar cáncer de origen gastrointestinal.

Investigadores del CIBEREHD lideran estas investigaciones a nivel estatal e internacional (véase *Grandes proyectos*), al mismo tiempo que se investiga en nuevas tecnologías de diagnóstico y valoración de la extensión, y en nuevas opciones de tratamiento quirúrgico y endoscópico, tanto en cáncer gastrointestinal como pancreático.

3. Oncología Hepática.

El cáncer hepático ha emergido como una neoplasia de incidencia creciente en los últimos años. La posibilidad de alcanzar el diagnóstico en fases iniciales de la enfermedad y la disponibilidad de tratamientos de eficacia probada para todas las fases de la enfermedad ha generado una gran actividad de investigación para mejorar tanto el conocimiento de los mecanismos moleculares que determinan su desarrollo, así como de la estrategia más adecuada para diagnóstico y tratamiento.

Se lidera la investigación genómica para determinar firmas genéticas tanto de desarrollo de cáncer en cirrosis como de progresión y pronóstico tras tratamiento. Se ha liderado el diseño y ejecución de ensayos clínicos internacionales para nuevos fármacos en fase 1-2, y en fase 3 tanto en primera línea como en segunda línea tras fracaso de terapia convencional. Lamentablemente, los resultados hasta ahora han sido negativos. Posiblemente, ello sea debido a que debe aumentarse el conocimiento de las anomalías que determinan la progresión

tumoral, y a que debe innovarse en la valoración pronóstica y diseño de ensayos para estos pacientes. Además de los estudios de intervención, se evalúa la utilidad de marcadores de respuesta basados en técnicas de imagen funcionales y en determinaciones biológicas en sangre periférica. Simultáneamente, se evalúan nuevas alternativas de tratamiento tanto para fases avanzadas de la enfermedad como en adyuvancia a tratamiento potencialmente curativo. En la actualidad se está analizando la eficacia de una nueva propuesta de criterios para la definición de respuesta al tratamiento y el impacto de la progresión tumoral en el pronóstico de los pacientes. Asimismo, se ha estudiado la clasificación molecular del colangiocarcinoma intrahepático, de la cual se derivan dos subclases la inflamatoria y la proliferativa. También se han descubierto nuevos oncogenes en esta neoplasia que pueden ser diana terapéuticas, como la fusión de FGFR2-PPLHN1 y mutaciones en IDH y se investigan anomalías en transporte de membrana que pueden explicar resistencia al tratamiento antineoplásico..

Selección de 5 grandes proyectos

A. Desarrollo y evaluación de métodos predictivos de respuesta a la quimioterapia en tumores de hígado, esófago, estómago, páncreas y colorectal.

IP: Marçal Pastor-Anglada y José J. García Marín

Grupos implicados: Marçal Pastor-Anglada, José Juan García Marín, Antoni Castells, Juan Francisco Medina, Jesús Prieto, Francisco Javier Padillo y Jordi Bruix.

Antecedentes:

Los estudios retrospectivos llevados a cabo por el CIBERehd utilizando TLDA, que fueron desarrolladas en etapas previas de esta investigación, han permitido identificar grupos de genes, implicados en distintos MOC, cuya expresión está elevada de forma característica en hepatocarcinoma, hepatoblastoma, colangiocarcinoma y adenocarcinoma de colon, cáncer de páncreas. Algunos de estos genes codifican proteínas relacionadas con la captación y expulsión de fármacos por parte de las células tumorales, las principales dianas farmacológicas, los mecanismos de detoxificación de fármacos y reparación del ADN, incluyendo también genes implicados en la proliferación celular y la apoptosis. así como receptores nucleares, entre los que se incluye el FXR que pueden jugar un papel clave en la orquestación de procesos de quimiopreención en tejidos sanos o de resistencia a la quimioterapia en tejidos tumorales. Los resultados obtenidos han dado lugar a varias publicaciones y una pequeña parte está siendo preparada para su publicación en un futuro inmediato. Una importante conclusión de esta parte de la investigación llevada a cabo en el marco de este proyecto es que, una vez identificados los genes con mayor protagonismo en el desarrollo de quimiorresistencia en cada tipo de tumores hepáticos y digestivo, hay que tener en cuenta que además de los cambios de expresión la aparición de variantes genéticas, debidas a SNPs o a "splicing" alternativos aberrantes, puede ser determinante en la función

global de cada uno de estos MOC. Estos estudios han sentado las bases para los que se están llevando a cabo en la actualidad sobre aspectos puntuales de los genes cuya relevancia se ha identificado en las etapas anteriores de esta línea de investigación. Por ello se hace necesario en la siguiente etapa del estudio emprender esta investigación sobre los genes seleccionados en base a los resultados obtenidos en etapas anteriores. De igual manera se está realizando un considerable esfuerzo en implementar tecnologías de análisis del interactoma de proteínas de membrana, con el objetivo de establecer el impacto del cambio del transportoma celular en la oncogénesis y en la respuesta terapéutica. Consideramos especialmente relevante realizar ensayos de mimetización *in vitro* del microambiente tumoral así como dilucidar los mecanismos de control que determinan los cambios en el perfil genético de los tumores y que determinan su fenotipo de falta de respuesta a la quimioterapia antitumoral y pobre pronóstico.

Objetivos del estudio:

A- Estudio del papel de los cambios de expresión y aparición de variantes genéticas de SLC22A1 en la quimiorresistencia del cáncer hepático al sorafenib.

B.- Estudio del papel del receptor nuclear FXR expresado en tejidos del circuito enterohepático en la regulación de la expresión de los genes de quimioprotección frente a agentes genotóxicos y de resistencia a la quimioterapia de los tumores de estos tejidos.

C. Detección en tumores hepáticos e intestinales y estudio funcional de variantes genéticas de genes de interés revelados por el uso de TLDA en estudios retrospectivos.

D. Estudio de los elementos de control génico implicados en la regulación del fenotipo de quimiorresistencia de tumores hepáticos e intestinales.

E. Alteración de los sistemas de quimioresistencia en el proceso de des-diferenciación celular en células tumorales hepáticas y su implicación en la respuesta antitumoral de Sorafenib

F. Validación de nuevas redes génicas implicadas en el desarrollo del fenotipo tumoral.

Este estudio enlaza con el protocolo dirigido a valorar el perfil metabolómico de los pacientes en tratamiento con sorafenib (IPs Dr Bruix y Dra Martinez Chantar) y con el desarrollo de nuevos criterios de imagen para detectar cambios predictivos de respuesta favorable al tratamiento antes de detectar progresión tumoral que refleja pérdida de respuesta.

B. Desarrollo y validación de biomarcadores de diagnóstico precoz de cáncer colorrectal en población de riesgo medio y alto de CCR (Proyecto EPICOLON III)

IP: Antoni Castells y Luis Bujanda

Antecedentes:

La progresión de la CCR es un proceso complejo y multifactorial que implica la interacción entre los diversos eventos genéticos y epigenéticos. La mejor comprensión de estos fenómenos en la última década ha permitido el desarrollo de marcadores moleculares con potencial utilidad clínica (biomarcador). Hasta la fecha, los avances más significativos se han producido en el estudio de biomarcadores en heces y en sangre, basados en las alteraciones genéticas (mutaciones somáticas en el ADN) y epigenéticas de los tumores (metilación aberrante del ADN, alteración del patrón de expresión de miRNAs). Sin embargo, en esencia, todas las neoplasias colorrectales son diferentes y presenta heterogeneidad molecular, lo que complica las estrategias de detección. Ésta es una consideración crítica en el desarrollo de biomarcadores de CCR, porque ningún biomarcador disponible en la actualidad es capaz de detectar todos los CCR con fiabilidad. Así, es fundamental desarrollar nuevos biomarcadores no invasivos (para su determinación en fluidos biológicos como la sangre o las heces) con una aproximación que incluya diferentes tipos de moléculas (ADN, metilación, miRNAs, proteína) en poblaciones bien caracterizadas, incluyendo pacientes con lesiones precursoras (en especial, adenoma avanzado).

Objetivo:

El objetivo principal de este proyecto es el desarrollo de biomarcadores no invasivos para la detección precoz de neoplasia colorrectal avanzada (adenoma avanzado y CCR) en individuos de riesgo medio y alto de CCR. Este objetivo global se desarrollará en los siguientes objetivos específicos:

1. Desarrollo de biomarcadores diagnósticos no invasivos de neoplasia colorrectal avanzada en individuos de riesgo medio.
2. Desarrollo de biomarcadores diagnósticos no invasivos de neoplasia colorrectal avanzada en individuos con antecedentes familiares de CCR (CCR familiar).
3. Desarrollo de biomarcadores diagnósticos no invasivos de neoplasia colorrectal avanzada en individuos de alto riesgo de CCR.

Necesidad de coordinación multicéntrica:

La importancia del presente proyecto radica en creación de un gran repositorio de muestras biológicas (heces y sangre) de individuos sanos, pacientes con lesiones preneoplásicas en el colon y pacientes con CCR para el descubrimiento sistemático de biomarcadores no invasivos de diagnóstico precoz del CCR. Utilizando la infraestructura ya existente de los programas de cribado poblacional de CCR y el grupo RECAR, se pretende organizar la recogida sistemática de muestras biológicas en el contexto de la Red Nacional de Biobancos.

Los investigadores de esta propuesta están en una situación idónea para hacer frente a las limitaciones de los estudios previos, dada la experiencia previa en este campo, la existencia de una infraestructura idónea para el desarrollo del proyecto (EPICOLON, COLONPREV, RECAR) y en la disponibilidad del uso de los biobancos como centros de procesado y almacenamiento de muestras.

C. Estudio prospectivo, controlado y aleatorizado de cribado del cáncer colorrectal en población de riesgo medio: detección de sangre oculta en heces mediante prueba inmunológica cada 2 años vs. colonoscopia (estudio ColonPrev)

IP: Antoni Castells y Luis Bujanda

Antecedentes:

En la actualidad, existen diversas estrategias aceptadas para el cribado del cáncer colorrectal en población de riesgo medio (hombres y mujeres mayores de 50 años, sin antecedentes personales ni familiares de esta enfermedad). Sin embargo, se desconoce cuál de ellas es más efectiva y eficiente debido a que no existen estudios que las comparen directamente.

Objetivo:

Comparar la eficacia de la detección de sangre oculta en heces mediante prueba inmunológica bienal con la colonoscopia cada 10 años en población de riesgo medio (individuos mayores de 50 años sin factores de riesgo adicionales) en relación a:

1. Mortalidad por cáncer colorrectal a 10 años (objetivo principal)
2. Tasa de detección de neoplasias colorrectales avanzadas (cáncer colorrectal y adenomas de alto riesgo)
3. Tasa de participación y adherencia
4. Tasa de complicaciones
5. Coste-eficacia

Necesidad de coordinación multicéntrica:

Las características de este proyecto requiere la participación de profesionales de ámbitos diversos: prevención, epidemiología, gastroenterología, oncología, etc. Este equipo multidisciplinar permitirá abordar los distintos análisis (eficacia y coste-eficacia). Por último, el número de pacientes establecido en el cálculo de la muestra (55.498 pacientes, 27.749 en cada grupo) requiere la participación de 8 CC.AA. con sus respectivos hospitales y centros de salud, lo cual obliga a establecer una adecuada coordinación entre niveles asistenciales.

Las características de este estudio permiten anidar en él diversos proyectos clínicos y traslacionales dirigidos a establecer estrategias de prevención del cáncer colorrectal. Entre ellos, cabe destacar el desarrollo y la validación de biomarcadores de diagnóstico precoz en población de riesgo medio y alto de cáncer colorrectal, cuya realización podría ser objeto de

una acción estratégica transversal en el seno del CIBEREHD dado su carácter multidisciplinar y transversal entre diversos grupos.

D. Investigación translacional para el análisis genómico integral del carcinoma hepatocelular (CHC).

IP: Josep M. Llovet y Jordi Bruix

Antecedentes:

En la actualidad, la valoración pronóstica de los pacientes con carcinoma hepatocelular se basa en criterios morfológicos convencionales. Lógicamente, el fenotipo tumoral depende de las alteraciones moleculares y, por tanto, caracterizar las anomalías moleculares en pacientes con esta neoplasia y su correlación con su evolución debe permitir el desarrollo de modelos de predicción basados en firmas genéticas, así como estratificar los pacientes de acuerdo al patrón molecular que debe ser responsable de la respuesta al tratamiento. Asimismo, se ha iniciado una nueva área de conocimiento con el estudio de la caracterización molecular del carcinoma fibrolamelar

Objetivos del estudio:

- Caracterizar los perfiles de expresión génica (microarrays, Affymetrix U133 Plus 2.0), alteración en el número de copias de DNA (Affymetrix Sty), miRNA, metilación y activación de vías de señalización en el CHC.
- Diseño firmas genéticas con capacidad predictiva de:
 - Pronóstico postratamiento quirúrgico en pacientes con CHC.
 - Identificación de invasión vascular.
 - Marcadores moleculares predictivos de respuesta a sorafenib
- Identificación y validación experimental de nuevos oncogenes y dianas terapéuticas.
- Caracterización molecular del carcinoma fibrolamelar.
- Identificación y validación experimental de nuevos oncogenes y dianas terapéuticas.

Los resultados obtenidos hasta la actualidad han contribuido a estratificar los pacientes en función de patrones genómicos. Estos datos se han generado a partir de colecciones de tumores tratados quirúrgicamente, y el reto actual es validar la utilidad y reproducibilidad de la información obtenida a partir de muestras de biopsia del tumor en fases avanzadas. La heterogeneidad de tumores avanzados sugiere que la información a partir de biopsia puede ser limitada. Por tanto, se han diseñado estudios para explorar la utilidad de detectar células

tumorales circulantes (CTC) y a partir de ellas poder obtener perfiles moleculares. Coloquialmente, esta aproximación se ha denominado “biopsia líquida”.

E. Diseño y síntesis de nuevos nanosistemas para el tratamiento selectivo y eficiente con Sorafenib en el CHC

IP: Francisco J. Padillo

Antecedentes:

Algunos pocos estudios han logrado encapsular con efectividad a Sorafenib en nanopartículas, e incrementar moderadamente la actividad antitumoral en estudios *in vitro* e *in vivo*. En este sentido, la incorporación de Sorafenib a nanopartículas constituidas por albúmina ha demostrado reducir el tamaño del tumor desarrollado por administración subcutánea de células tumorales de mama MCF-7 en ratones desnudos. Las micelas poliméricas basadas en el ácido fólico, expresado de forma importante en células tumorales, incorporando Sorafenib han demostrado ser efectivas frente a la proliferación celular e inducir apoptosis de células HepG2 en cultivo. Sin embargo, la mayoría de estos nanosistemas están basados sobre la vehiculización pasiva del sorafenib cuyos efectos beneficiosos se deben mayormente al efecto EPR. El presente proyecto pretende incorporar Sorafenib a estructuras nanométricas diseñadas racionalmente con el fin de aumentar su solubilidad en agua, escapar al sistema reticuloendotelial, aumentar el efecto de permeación y retención, y alcanzar selectivamente el tumor hepático. Para alcanzar este objetivo se emplearán gliconanosistemas funcionalizadas con ligandos sacarídicos específicos del receptor de la ASGPR.

Objetivos del estudio:

- Diseño, desarrollo y caracterización física de los gliconanosomas, gliconanomicelas fotopolimerizable y gliconantubos de carbono biocompatibles para la ablación fototérmica capaces de incluir Sorafenib.
- Identificación de la capacidad de los compuestos marcados de incorporarse y liberar el fármaco a las células tumorales hepáticas.
- Actividad anti-proliferativa, citotóxica, selectividad, pro-apoptótica y de prevenir la migración e invasividad celular por los distintos agentes desarrollados sobre las células de hepatoma con varios grados de diferenciación celular y en presencia o no de replicones del virus de la hepatitis C (VHC). Se realizarán estudios de selectividad con células no tumorales hepáticas y de otras estirpes celulares.
- Actividad anti-proliferativa, pro-apoptótica y anti-angiogénica de los compuestos desarrollados en un modelo ortotópico de implante de células tumorales humanas con distintos grados de diferenciación.

Necesidad de coordinación multicéntrica:

Este proyecto se desarrolla en colaboración con grupos del CIBERehd (Dr. Manuel Romero) y del CSIC (Dr. Noureddine Khiar, IIQ, Sevilla). Asimismo, la validación de las nuevas presentaciones nanotecnológicas de Sorafenib debería realizarse en líneas tumorales con diversas características moleculares que poseen los distintos grupos del programa

F. Desarrollo de vacunas universales y personalizadas para el tratamiento del hepatocarcinoma

IP: B Sangro.

Antecedentes:

La puesta en marcha de una respuesta inmune antitumoral eficaz depende crítica aunque no únicamente del reconocimiento por el sistema inmune de antígenos específicos de tumor que induzca la activación y proliferación de células T CD4+ helper y CD8 + efectoras específicas de tumor en los pacientes. Este mecanismo es frecuentemente inexistente o ineficaz en pacientes con tumores sólidos.

Objetivos:

El objetivo fundamental del proyecto HEPAVAC es el desarrollo de una vacuna universal que incluya múltiples péptidos asociados a tumores (TUMAP) que se presenten en asociación a moléculas HLA de clase I y II con frecuencia y de forma natural en la superficie de células de hepatocarcinoma. En un segundo paso, el tratamiento se podría complementar con una vacuna adicional personalizada para la que identificarían péptidos mutados, procesados y presentados naturalmente, procedentes del tumor que afecta al paciente.

Las dos grandes partes del proyecto son a) la elaboración de la vacuna universal, previa identificación del peptidoma de pacientes con hepatocarcinoma de distintas etiologías y estadios; y b) la investigación de su seguridad y utilidad biológica en un ensayo clínico multicéntrico internacional.

Programa 6. Inflamación gastrointestinal y neurogastroenterología
--

Coordinador: J. Panés

Coordinadores adjuntos: A. Azpiroz, A. Lanas

El programa 6 mantiene una intensa y productiva labor en la realización de estudios colaborativos, que si bien en anualidades anteriores se centraban fundamentalmente en estudios clínicos, el presente plan de acción contiene numerosos e interesantes proyectos traslacionales que resultan no tan sólo de interacciones entre grupos que ya producen investigación traslacional, sino también del crecimiento de proyectos coordinados entre los grupos cuyos componentes son investigadores básicos y los grupos mixtos o clínicos.

Para muchos de los grupos integrantes, la actividad colaborativa en el seno CIBERehd constituye al núcleo de su actividad investigadora.

Grupos propios programa 6:

	Centro	I.P.	Componentes	Componentes IP	Descriptor grupo
1	Hospital Vall d'Hebrón Barcelona	F Azpiroz	10	2	NGE
2	Hospital Parc Taulí Sabadell	X Calvet	12	5	EII EGD
3	Fac. Medicina. U. València València	JV Esplugues	11	5	EGD
4	H. Germans Trias i Pujol Badalona	E Cabré	10	5	EII
5	Hospital Vall d'Hebrón Barcelona	F Guarner	9	3	EII
6	Hospital Clínico Zaragoza	A Lanas	13	3	EGD, EII,
7	Hospital Clínic	J Panés	11	7	EII

Barcelona					
8	D Farmacología. U. Granada	F Sánchez de Medina	9	4	NGE EII
9	Hospital La Princesa Madrid	J Pérez-Gisbert	13	6	EII EGD
10	Hospital Mataró, UAB	P Clavé	12	6	NGE

EGD: Patología esofagogastroduodenal; EII: Enfermedad inflamatoria intestinal; NGE :Neurogastroenterología

Grupos vinculados programa 6:

	Centro	I.P.	Componentes	Componentes IP	Descriptor grupo
11	Hospital La Fe Valencia	B Beltrán	7	2	EII NGE
12	Hospital Mútua Terrassa	M Esteve	10	2	EII.

El programa se estructura en las siguientes 3 Grandes Líneas de Investigación: Patología Esófagogastroduodenal, Enfermedad Inflamatoria Intestinaly Neurogastroenterología

1. Línea de Investigación en patología esófago-gastro-duodenal

La actividad investigadora de los grupos participantes en esta línea cubre tres ámbitos bien diferenciados: 1) Estudio del impacto poblacional, los mecanismos de lesión y los determinantes de progresión y respuesta terapéutica en la enfermedad por reflujo gastroesofágico, 2) Investigación de los mecanismos de lesión y de las nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas en las enfermedades gastro-intestinales asociadas a la inhibición de ciclo-oxigenasas y/o infección por *Helicobacter pylori*, 3) Investigación de los mecanismos de lesión y los determinantes ambientales y genéticos asociados a los procesos de base inflamatoria en patología esofago-gastro-intestinal.

1.1. Estudio del impacto poblacional, los mecanismos de lesión y los determinantes de progresión y respuesta terapéutica en la enfermedad por reflujo gastro-esofágico

La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) es altamente prevalente en la población general (15%), lo que origina graves alteraciones en la calidad de vida de los pacientes e importantes repercusiones económicas. La ERGE es diversa en sus formas de presentación y en sus manifestaciones yendo desde la presencia de síntomas leves, al desarrollo de carcinoma. La progresión desde la mera presencia de reflujo gastro-esofágico con mucosa normal a esofagitis, metaplasia intestinal o esófago de Barrett sin displasia, displasia de bajo grado, displasia de alto grado o carcinoma, es una secuencia conocida, pero llena de incógnitas desde el punto de vista mecanístico, diagnóstico, terapéutico y de prevención.

Limitar el impacto de la ERGE exige avanzar en varios campos de forma paralela. Por un lado se debe facilitar su reconocimiento y la aplicación de las medidas terapéuticas actuales; por otro se debe limitar su progresión conociendo mejor los mecanismos involucrados para, en consecuencia, poder implementar las medidas diagnósticas y terapéuticas apropiadas a cada situación evolutiva.

En el primero de los aspectos es notoria la ausencia de datos precisos de lo que acontece en el ámbito poblacional. La implementación de las actuales guías de práctica clínica parece a todas luces deficiente y por consiguiente, parece prioritario detectar áreas de mejora en el manejo de los pacientes. Se debe trabajar en conocer los factores fácilmente identificables relacionados con el desarrollo de esofagitis y su gravedad para la toma de decisiones clínicas en los pacientes con síntomas de ERGE. Es asimismo deseable un mayor y mejor conocimiento de la efectividad, utilidad y coste del tratamiento farmacológico antisecretores de la ERGE en condiciones de práctica clínica habitual.

El esófago de Barrett, consecuencia del reflujo gastroesofágico, es el único precursor conocido de adenocarcinoma de esófago. Solo una pequeña proporción de pacientes desarrolla cáncer. A pesar de ello, este es el cáncer gastrointestinal con un mayor crecimiento relativo en incidencia. La mayoría de los adenocarcinomas que se originan se detectan en una fase tan avanzada que ya no es posible su resección quirúrgica y tienen muy mal pronóstico. Las actuales formas de detección de la progresión de la ERGE a cáncer, basado en el cribado y la presencia de displasia en la biopsia, presenta serias deficiencias, fundamentalmente debido a la escasa reproductibilidad inter-patólogos y su escaso valor predictivo. Por todo ello, los actuales programas de vigilancia se basan en la realización de endoscopias periódicas con toma de múltiples biopsias cuyo coste-efectividad, al margen del impacto sobre el paciente, se ha puesto en entredicho.

Por todo ello se precisan de forma imperiosa indicadores (biomarcadores) capaces de identificar los pacientes con mayor riesgo de progresión neoplásica que requieran una monitorización más exhaustiva y una intervención terapéutica temprana. En este sentido se está investigando por un lado en biomarcadores fiables y fácilmente accesibles. Entre ellos los derivados de los fenómenos epigenéticos como la hipermetilación de regiones concretas del

genoma (islas CpG) o la hipo-metilación global son serios candidatos al tratarse de eventos precoces en el proceso de carcinogénesis. Por otro se trabaja también en dos frentes: 1) los fenómenos moleculares asociados a las transformación de clones celulares que se expanden y desencadenan finalmente el carcinoma, y 2) la progresión de la enfermedad en base a mutaciones de las “stem-cells” encargadas de la regeneración mucosa en la ERGE. En paralelo, se están desarrollando activamente investigaciones ligados a la capacidad de agentes (quimioprolifácticos) que frenen la progresión neoplásica en base a los conocimientos actuales. En este sentido se están llevando a cabo estudio de los mecanismos y los efectos ligados a anti-oxidantes, y a inhibidores de las ciclo-oxigenasas tanto por su acción anti-prostaglandina, como por su acción antiapoptótica. Otra de las investigaciones que se van a iniciar en este campo en 2015 se centra en el conocimiento de uno de los mecanismos fisiopatológicos fundamentales en el proceso de transformación neoplásica que es la alteración de la regulación del pH y su impacto en el metabolismo celular, y más concretamente en conocer el papel que juegan diferentes transportadores de protones de la célula en la carcinogénesis del esófago, todo ello con un claro objetivo traslacional, el de conseguir un tratamiento más efectivo y menos tóxico para un tipo de cáncer, el adenocarcinoma de esófago que se asocia con muy baja supervivencia y muy mala calidad de vida para los pacientes. Prueba del carácter traslacional del estudio es que todas las drogas que se evaluarán en este proyecto a nivel pre-clínico son fármacos de uso clínico, de manera que la transferencia de los resultados del proyecto a la clínica pueda ser inmediata.

Creemos que este nuevo enfoque del tratamiento del cáncer, basado en interferir aquellos procesos bioquímicos o fisiológicos que son comunes a todas las células neoplásicas (independientemente de su estirpe histológica o de su perfil genético) y que precisamente las diferencian de las células normales, tiene un enorme potencial ya que podría ser aplicado a muchos otros tipos de tumores del tracto digestivo.

1.2 Investigación de los mecanismos de lesión y de las nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas en las enfermedades gástro-intestinales asociadas a la infección por *Helicobacter pylori* y/o inhibición de ciclo-oxigenasas

La patología gástrica es la más prevalente a nivel gastrointestinal. Sus dos mayores agentes causales son, por un lado, la infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), responsable de la pandemia de mayor incidencia en el mundo, y por el otro la utilización de agentes inhibidores de las ciclooxigenasas, COX-1 y COX-2, en el tratamiento de las enfermedades reumáticas (AINEs) y prevención cardiovascular (ácido acetil-salicílico).

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) constituye la causa más importante de gastritis crónica, úlcera gastroduodenal y cáncer gástrico. Un meta-análisis realizado por el CIBER del Hospital de La Princesa ha demostrado que la prevalencia de infección por *H. pylori* en España es considerablemente elevada, aproximadamente del 50% en la población general y de un 40% en los adultos jóvenes (20-30 años). Por ello, desde ese centro se coordinará un estudio multicéntrico que evaluará la prevalencia, la virulencia, la resistencia y los patrones de transmisión familiar de *H. pylori* en voluntarios jóvenes (18-20 años) y sus familiares de primer grado. Las modalidades diagnósticas actuales tanto de la infección como de las patologías

asociadas, están bien establecidas pero exigen medidas invasivas (endoscopia) o se precisa de tecnología no siempre disponible para un diagnóstico rápido (espectrómetro de masas) o no es específico (serología). El diseño de nuevas herramientas diagnósticas es esencial para un manejo correcto de la infección. En este sentido los grupos del CIBER continúan trabajando en la mejora de los rendimientos diagnósticos y se están preparando varios proyectos de evaluación de kits diagnósticos, desde los no invasivos (como un nuevo kit rápido de anticuerpos monoclonales en heces) hasta los mínimamente invasivos (como un *BaylorBrush* para obtención de cultivo evitando la realización de endoscopias o una cápsula endoscópica capaz de diagnosticar *in situ* la infección por *H. pylori*). Por otro lado las actuales modalidades terapéuticas de erradicación de la enfermedad están perdiendo eficacia como consecuencia del desarrollo de resistencias a los agentes más utilizados. Todo ello ha conducido a la búsqueda de estrategias que mejoren la eficacia del tratamiento, tanto antibióticas (nuevas indicaciones, formas farmacéuticas y pautas de tratamiento) como no antibióticas incluyendo estudios con probióticos, o la terapia fotodinámica (que permitirá con un único tratamiento mediante nanotecnología la erradicación de la bacteria sin el uso de antibióticos). Esta investigación se está llevando a cabo en el seno del CIBER desde 2 ámbitos diferenciados. Por un lado, a nivel clínico, se están llevando a cabo ensayos con nuevas combinaciones de agentes dirigidas tanto a terapias de rescate (como el uso de levofloxacino o moxifloxacino tras varios fracasos erradicadores) como a otras dirigidas a convertirse en opciones de primera línea (como la evaluación de los tratamientos cuádruples sin bismuto, secuencial y concomitante) o incluso la creación de nuevas pautas (como la basada en rifaximina). De especial relevancia para esta sub-línea es el proyecto 'EuropeanRegistryon*H. pylori*management' por el que durante 2014 y los próximos años, 300 investigadores de 30 países europeos registrarán de forma sistematizada el manejo de la infección por esta bacteria y los resultados de dicho proceso (eficacia y efectos adversos). Este proyecto, coordinado por el grupo del Hospital Universitario de La Princesa, permitirá generar la base de datos más extensa desarrollada sobre esta enfermedad e identificar en ella el manejo actual de la bacteria y las mejores estrategias diagnóstico-terapéuticas.

Los resultados de los estudios coordinados por este programa son de importancia capital para la elaboración de los futuros consensos y guías clínicas nacionales e internacionales, en los que participan y coordinan grupos CIBER. Así mismo, se están incorporando nuevas metodologías meta-analíticas, como las comparaciones mixtas, los meta-análisis en red y las aproximaciones bayesianas, para responder de forma global preguntas sobre la eficacia y seguridad de las diferentes opciones terapéuticas en la erradicación de *H. pylori*. El desarrollo de guías clínicas y meta-análisis ha sido tradicionalmente considerado el último escalón de la translacionalidad de la evidencia a la práctica ('From bench to bedside'). Este programa se sitúa a la vanguardia de la translacionalidad, al incorporar la formación continuada al proceso de translación, coordinando el proyecto educativo y de investigación 'Optimal*H. pylori*management in primary care', cuyo objetivo es mejorar los conocimientos, la toma de decisiones y por tanto el manejo de esta infección, adaptando y trasladando el Consenso Europeo sobre *H. pylori* (Maastricht IV) a la práctica clínica rutinaria de los médicos de atención primaria de 9 países europeos.

Por otro lado, mediante el desarrollo de modelos animales donde se testan nuevos compuestos, diseñados mediante ingeniería genética y dirigidos a dianas que se creen esenciales para la supervivencia de la bacteria. En este sentido se ha diseñado una batería de > 200 agentes dirigidos contra la flavodoxina, de los que 4 que han mostrado una mayor actividad *in vitro*, y que están siendo testados en modelos de infección "in vitro" e "in vivo" con gerbos y ratones Balb. Otros aspectos esenciales en la lucha contra las enfermedades

derivadas de la infección por *H. pylori*, es el mejor conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos ligados a la infección. A través de diversos proyectos en este programa se evalúan la apoptosis, la angiogénesis, el estrés oxidativo y la modulación de la respuesta inmune producidos por las bacterias en la mucosa gástrica, que son los procesos a través de los que *H. pylori* causa sus patologías asociadas. También en este sentido los RNAs no codificantes (nc-RNA) comprenden varias familias de RNAs. Entre ellos, los microRNAs y los RNAs codificados en las llamadas Transcribed-UltraconservedRegions son moléculas claves para la regulación de la transcripción. Se ha establecido claramente la relación entre la expresión de miRNA y diversas enfermedades, entre ellas, distintos tipos de neoplasia. Por todo ello se está investigando en determinar los cambios *in vivo* e *in vitro* de los nc-RNA durante el proceso de carcinogénesis gástrica inducida por *H. pylori*, así como en el perfil de miRNA plasmático o de otros nc-RNAs como herramienta diagnóstica para infección por *H. pylori*, y/o la presencia de lesiones preneoplásicas o neoplasias gástricas incipientes. En el mismo sentido, otra neoplasia, el linfoma gástrico MALT, habitualmente ligada a la infección por *H. pylori*, está siendo evaluada en sus aspectos diagnósticos mediante técnicas de expresión génica de última generación (RNA-seq para RNA mensajero y no codificante) para el diagnóstico en los pacientes en los que fracasan los métodos diagnósticos habituales, y en aquellos ligados a la respuesta terapéutica y el pronóstico.

Las complicaciones gastrointestinales como hemorragia o perforación son un problema mayor en patología digestiva. La causa mayor de los mismos se asocia al consumo de fármacos que inhiben las ciclo-oxigenasas, que se utilizan al menos el 25% de la población adulta. En base a estudios colaborativos desarrollados por investigadores del CIBERehd, hoy conocemos que las lesiones asociadas a éstos fármacos se dan no solo en el tracto digestivo sino en el tracto digestivo inferior. Nuevos desafíos con fármacos no esencialmente gastrolesivos están emergiendo como importantes causas de hemorragia gastrointestinal en pacientes susceptibles. Precisamos conocer exactamente el impacto de los mismos en el contexto actual. Existen también lagunas importantes tanto en la comprensión de los mecanismos que hacen susceptibles a las personas a sufrir una complicación, como en las medidas de prevención y tratamiento del daño. Las bases genéticas de la susceptibilidad al daño, las interacciones con otros factores ambientales como la infección a *H. pylori* y la elaboración de herramientas de ayuda a la toma de decisiones terapéuticas son los retos más inmediatos de la comunidad científica y que se van a abordar en el seno de los grupos CIBERehd. Un área en desarrollo que abordaremos será el efecto de la microbiota y su interacción con estos fármacos en el desarrollo de lesiones y complicaciones gastrointestinales.

1.3 Investigación de los mecanismos de lesión y los determinantes ambientales y genéticos asociados a los procesos de base inflamatoria en patología esófago-gastrointestinal.

Entre los fenómenos inflamatorios que desencadenan problemas clínicos relevantes, incluidos la ulceración gastrointestinal y el desarrollo final del cáncer, están aquellos relacionados con el ácido y la infección por *H. pylori*. Los determinantes ambientales y genéticos asociadas a estas patologías de etiología multifactorial pueden evaluarse desde diversos ámbitos. Muchos de los trabajos publicados en la literatura presentan limitaciones importantes tanto en el diseño del estudio, como en el tamaño muestral de la población analizada lo que hace que sus

Conclusiones no puedan ser aceptadas de forma taxativa por la comunidad científica. Por lo tanto, se precisan estudios poblacionales bien caracterizados, en diferentes áreas geográficas y con un amplio número de pacientes, para poder determinar de forma concluyente el papel de los polimorfismos genéticos en el desarrollo de las lesiones más relevantes asociadas al ácido y la infección por *H. pylori* como son la úlcera péptica y el cáncer gástrico. El CIBER, desde su capacidad para aunar esfuerzos y generar estudios multicéntricos a través de los grupos participantes, pretende llevar a cabo estudios en este ámbito. Uno de los grupos (Hospital Clínico de Zaragoza) coordina un estudio multicéntrico a nivel nacional para evaluar el valor pronóstico y diagnóstico de un amplio panel de polimorfismos genéticos implicados en las diferentes vías de la carcinogénesis gástrica así como su potencial interacción con factores ambientales e infección por *H. pylori*. A lo largo del año 2014 se ha realizado un estudio de replicación de SNPs asociados a riesgo de CG identificados en el Estudio Prospectivo Europeo sobre Dieta, Cáncer y Salud (estudio EPIC). Por último, el grupo participará en el primer estudio GWAS realizado en población europea (StarGastricCancer Project; www.star-project.md) para la identificación de factores genéticos en el cáncer gástrico. La ejecución de la primera fase del GWAS tendrá lugar en el año 2015. El objetivo final de estos estudios es el hallazgo de marcadores de riesgo y/o pronóstico que nos permita identificar sub-poblaciones de individuos con más posibilidades de desarrollar CG o presentar un peor pronóstico en su evolución y que precisan por tanto, un seguimiento más detallado o una actuación terapéutica precoz.

Finalmente se investigarán mecanismos asociados al daño inflamatorio gastrointestinal desde una nueva óptica. La hipoxia de la mucosa digestiva se considera como una de las causas principales que subyace en la ulceración gastrointestinal. Patologías tan diversas y relevantes como la gastropatía por AINE, la enfermedad inflamatoria intestinal, la colitis isquémica o la enteropatía del cirrótico cursan con alteraciones que, con grado distinto de evidencia, parecen incorporar en su génesis diversos niveles de isquemia mucosa. Son abundantes los estudios clínicos y/o experimentales que relacionan el grado de hipoxia con respuestas funcionales como la angiogénesis. Sin embargo son muy pocos los que evalúan su impacto en la mucosa digestiva humana en relación con aspectos básicos de la respuesta a la disminución en los niveles de oxígeno, entre otros: funcionalismo mitocondrial, actividad glicolítica, expresión génica de mediadores como, por ejemplo, el factor inducible por hipoxia (HIF) o, más aun, con el perfil metabólico. El conjunto de estas patologías tienen una elevada incidencia cuyo tratamiento farmacológico no está clínicamente resuelto lo que hace que el estudio de su etiopatogenia resulte de gran interés clínico. En este contexto se pretende caracterizar diferencias en la respuestas a la hipoxia en tejidos humanos gastrointestinales para establecer patrones de respuestas que facilitarían su mejor caracterización fisiopatológica.

2. Línea de Investigación en enfermedad inflamatoria intestinal

La actividad investigadora de los grupos participantes en esta línea cubre tres ámbitos: 1) la caracterización de las bases fisiopatológicas de la EII y sus complicaciones, 2) el desarrollo de nuevas modalidades diagnósticas, 3) la optimización del uso de los recursos terapéuticos disponibles y el desarrollo de nuevos tratamientos.

2.1. Caracterización de las bases fisiopatológicas de la EII

La etiopatogenia de las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino se relaciona con una respuesta exagerada del sistema inmune frente a los microorganismos presentes en las superficies mucosas del tubo digestivo. No se ha podido implicar una especie o género microbiano patógeno determinado como responsable de la inducción la respuesta inmune exagerada y de las lesiones intestinales. De hecho, las estrategias terapéuticas basadas en fármacos con capacidad de controlar/suprimir la respuesta inmune por mecanismos de especificidad variable (corticoides, azatioprina, biológicos anti-TNF, etc.) son mucho más eficaces que los tratamientos dirigidos contra la población microbiana (antibióticos). Si no hay unos agentes infecciosos responsables del trastorno, falta entender cuál es o cuáles son las causas primarias que provocan la disfunción del sistema inmune. Podría tratarse de una alteración primaria del sistema inmune que responde agresivamente frente a las colectividades microbianas no patógenas que colonizan el intestino. En este sentido la identificación de determinados polimorfismos genéticos que se asocian a riesgo e incidencia de EII demuestra que existen defectos primarios en el sistema inmune que condicionan la aparición de enfermedad. Por otra parte, el comportamiento epidemiológico de las EII, con un marcado y continuado incremento de incidencia y prevalencia en las sociedades con alto desarrollo socio-económico, indica que hay factores ambientales determinantes de su incidencia.

Uno de los factores ambientales más invocados es la población microbiana del intestino ya que está directamente relacionada con el trastorno de los mecanismos inmunitarios. Diversos estudios han apuntado la existencia de disbiosis en los pacientes con EII. La disbiosis se define como composición anormal de las comunidades microbianas que pueblan el intestino (microbiota intestinal). Sin embargo no existe consenso en cuanto a cuál sería la composición normal de la microbiota intestinal, y por tanto resulta difícil valorar el significado biológico de la disbiosis en la EII. Los avances tecnológicos recientes basados en secuenciación masiva y análisis bioinformático están proporcionando información muy novedosa. Nuestra línea de investigación aplicará las nuevas tecnologías para investigar diversidad y funcionalidad (metagenómica) de la microbiota intestinal en pacientes con EII.

Otro aspecto relevante es la forma en que la inmunidad innata reconoce a la microbiota intestinal de estos pacientes, habiéndose caracterizado defectos específicos y permanentes de la inmunidad innata en el reconocimiento de microorganismos a nivel ileal y de colon. Se pretende caracterizar el efecto que el déficit de defensinas genera en la inmunidad innata. Del mismo modo se intenta dilucidar cómo afectan estos hallazgos al establecimiento, desarrollo y función de la inmunidad adquirida.

Los estudios epidemiológicos y estudios de casos y controles permiten identificar potenciales factores epidemiológicos relacionados con la aparición inflamación crónica. En este sentido se están desarrollando estudios que han identificado y siguen identificando factores relacionados con la aparición de colitis microscópica como determinados fármacos (AINES, AAS, lansoparazol o sertralina) o el tabaco.

La caracterización molecular mediante herramientas de evaluación múltiple permite seleccionar la expresión de genes alterados en función de distintas circunstancias individuales, ambientales y genéticas. Este es el caso de innovadoras aproximaciones diagnósticas de base molecular con capacidad de predecir y mejorar el manejo de patologías complejas como distintos tipos de cáncer y enfermedades minoritarias. Por lo tanto, el estudio de los perfiles moleculares puede

llegar a caracterizar distintos fenotipos y complicaciones de la EII. En este sentido, la naturaleza de la recurrencia post-quirúrgica en la enfermedad de Crohn (EC) ofrece un marco experimental idóneo para la realización de estudios transversales o prospectivos donde establecer que perfiles de expresión pueden estar asociados a la aparición de recurrencia.

Un estudio pretende caracterizar el uso de calprotectina y de citoquinas seriadas en plasma como predictores de recurrencia de la EC.

Otro aspectoclínico de la enfermedad que sigue inexplicado es la variabilidad en las respuestas terapéuticas. Así, mientras que algunos pacientes alcanzan la remisión clínica y curación de las lesiones en respuesta a tratamiento anti-TNF, otros no muestran ningún beneficio de esta terapia. Es plausible pensar en la existencia de SPNs o firmas de expresión génica con capacidad predictiva sobre el curso inflamatorio o útiles para identificar nuevas dianas terapéuticas en situaciones clínicas articulares. Por todo ello se ha diseñado un proyecto de investigación con la finalidad de: 1) Asociar perfiles de expresión genética a la recurrencia postquirúrgica, y 2) Conocer las bases moleculares y celulares de la refractariedad a esteroides y a otros inmunosupresores 3) Conocer las bases fisiopatológicas de la colitis microscópica (subpoblaciones linfocitarias y perfil de citocinas) 4) Determinar los mecanismos responsables del mantenimiento de la inflamación en pacientes no respondedores a la terapia anti-TNF

En el ámbito de la genética, en los últimos años se ha expandido el conocimiento al respecto del uso de micro-RNAs como biomarcadores genéticos. Dentro del grupo se ha puesto a punto la metodología que permita un análisis correcto de microRNAs plasmáticos. Se está caracterizando los microRNAs implicados en la patogenia de la EC al debut y analizando los microRNAs que podrían ser predictores de respuesta.

El estudio de los procesos de angiogénesis y linfangiogénesis ha adquirido una importancia creciente en las investigaciones sobre la etiología de la inflamación en múltiples órganos. En este contexto se plantea un proyecto de investigación con el objetivo de caracterizar las alteraciones en los procesos de angiogénesis en la EII y los mecanismos moleculares que constituyen la base de los mismos. Además se plantea evaluar el efecto de diversas terapias de eficacia establecida sobre la angiogénesis en el contexto de la EII.

2.2. Desarrollo de nuevas modalidades diagnósticas

La edad de diagnóstico de la EII se sitúa habitualmente entre los 16 y 35 años, la enfermedad compromete el desarrollo personal, familiar y social de los pacientes. Es habitual que se produzca un considerable retraso en el diagnóstico, que en nuestro medio se sitúa en unos 3.5 años tras el inicio de los síntomas, siendo inicialmente los pacientes catalogados con frecuencia como colon irritable o anorexia nerviosa. Este retraso en el diagnóstico comporta una pérdida de posibilidad de instaurar tratamientos eficaces de forma precoz que permitan modificar el curso de la enfermedad. La eficacia de los tratamientos biológicos está claramente relacionada con el tiempo de evolución de la EC, consiguiendo tasas de respuesta en el primer año de un 90%, que son en cambio sólo de un 48% a los 5 años de evolución de la enfermedad, incluso para pacientes que no han recibido previamente esta clase de fármacos. El diagnóstico y tratamiento precoces son cruciales para conseguir modificar el curso de la enfermedad.

El valor de los determinantes genéticos para la predicción del curso de la enfermedad o la respuesta terapéutica se ha mostrado uniformemente pobre en todos los estudios. Los grupos del programa 6 están desarrollando diversos estudios sobre el transcriptoma con el fin de identificar potenciales dianas predictoras de respuesta al tratamiento con corticoesteroides. De estos estudios se está concluyendo la fase más experimental, lo que nos permitirá hacer propuestas colaborativas para concretar estos aspectos en estudios clínicos. En este sentido desde este CIBERehd se ha iniciado una colaboración con el proyecto Europeo IBD CHARACTER que trata de identificar en pacientes con diagnóstico inicial de EII y sin tratamientos previos, el perfil de la microbiota, la expresión genómica, las alteraciones epigenéticas, y los biomarcadores y las posibles interrelaciones entre los mismos para profundizar en los conocimientos etiológicos, y progresar en los métodos diagnósticos de la enfermedad.

El diagnóstico diferencial de la EII con otros procesos que cursan con síntomas similares pero sin lesiones inflamatorias, fundamentalmente el síndrome del intestino irritable, es esencial para no retrasar el diagnóstico de los pacientes con enfermedad inflamatoria, y evitar trastornos emocionales y exposición a fármacos innecesarios en los pacientes con patología no inflamatoria. En este sentido, los marcadores fecales, como la calprotectina, o la lactoferrina, tienen la ventaja teórica de disponer de una mayor especificidad para el diagnóstico de las enfermedades, al no elevarse en otros procesos de localización extradigestiva. Por otra parte, en pacientes con un diagnóstico establecido de EII podrían evitar la necesidad de realizar una exploración endoscópica con intención de estimar la actividad de la enfermedad. En este contexto, se ha diseñado un estudio para la validación de un test rápido de determinación de concentración de calprotectina fecal (Quantum Blue™) para la predicción de la recidiva de la EII el cual resultará en un diagnóstico más precoz y tratamiento más eficaz.

Otra iniciativa investigadora de carácter multicéntrico en la que se integran diversos grupos del programa 6 de CIBERehd es el estudio del valor de la resonancia magnética para la monitorización de la respuesta terapéutica en la EC. Uno de los grupos (Hospital Clínic) se ha convertido en líder a nivel mundial en la implementación del uso de la resonancia magnética para la evaluación de la EC. Demostrada la correlación entre lesiones endoscópicas y parámetros de resonancia magnética, el siguiente paso es la evaluación del valor para medir una respuesta a un tratamiento. Este apartado tiene un relevante valor clínico, pero también en el desarrollo de estudios terapéuticos, ya que la aceptación de la resonancia por parte del paciente facilita una monitorización mucho más estrecha de la respuesta.

La enfermedad celiaca constituye una forma de inflamación intestinal con una respuesta inmunológica bastante bien caracterizada frente a una proteína contenida en el gluten de la dieta. El conocimiento progresivo de todo el espectro de gravedad clínico e histológico ha permitido saber que las formas histológicamente leves con estructura vellositaria preservada pueden ser clínicamente tan sintomáticas como la enfermedad celiaca con atrofia. La mayor parte de estos pacientes quedan sin diagnosticar porque los métodos serológicos de diagnóstico suelen ser negativos en estos casos y la lesión histológica no es específica de esta entidad. En la actualidad se están desarrollando estudios de investigación que permitirán diagnosticar mejor la enfermedad, mejorar el cumplimiento de la dieta sin gluten y conocer la historia natural de la enfermedad. Dentro de los métodos de diagnóstico se están evaluando subpoblaciones linfocitarias relacionadas con la sensibilidad al gluten y el perfil ómico (en tejido, sobrenadante de tejido, en sangre y orina) que permita diagnosticar a estos pacientes en en fases iniciales. Otra línea de investigación evalúa la detección de péptidos de la gliadina en heces como método de adherencia a la dieta sin gluten y se ha iniciado un estudio de historia

natural de la enfermedad celiaca detectada por cribado poblacional para determinar la frecuencia de aparición espontánea de tolerancia en fases precoces de la vida.

2.3 Optimización de los recursos terapéuticos y desarrollo de nuevas estrategias

A pesar de una correcta optimización en el uso de los tratamientos actualmente disponibles para el manejo de la EC, existe una proporción de pacientes que presentan refractariedad a estas terapias y la cirugía representa el único medio de controlar el proceso inflamatorio. Sin embargo, para algunos pacientes la cirugía tampoco constituye una alternativa terapéutica válida ya sea por la extensión y/o por localización de las lesiones (e.g. enfermedad extensa en el intestino delgado, afectación duodenal, afectación esofágica). En los últimos años se ha producido un notable avance en el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades de base inmune, siendo la aplicación de la terapia celular la que puede ofrecer resultados más prometedores. El trasplante de células madre, hematopoyéticas o mesenquimales, ya se ha aplicado en humanos en múltiples enfermedades graves crónicas de base autoinmune o inflamatoria, con resultados positivos. Las células madre se caracterizan por ser células indiferenciadas que a través de su replicación tienen la capacidad de diferenciarse en células maduras especializadas. Las propiedades inmunomoduladoras de estas células y su capacidad de regeneración de tejidos les confieren un potencial terapéutico en enfermedades crónicas de base autoinmune e inflamatoria. El trasplante de células madre ha demostrado ser eficaz para la inducción y el mantenimiento de la remisión clínica en casos de EC grave refractaria. Sin embargo, este es un tratamiento no exento de posibles complicaciones por lo que debe ser considerado sólo en pacientes seleccionados y debe realizarse en centros con experiencia. La toxicidad asociada al trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos nos mueve a buscar alternativas terapéuticas menos tóxicas y en este sentido el tratamiento con células dendríticas autólogastolerogénicas puede ofrecer la posibilidad de modulación de la respuesta inmune alterada en la EC.

Los fármacos anti-TNF han supuesto un hito en el manejo de la EC, modificando su historia natural. El potencial riesgo de efectos adversos del tratamiento de estos fármacos junto con su elevado coste hace necesario el desarrollo de estrategias que permitan seleccionar a los pacientes que van a responder al tratamiento, así como el manejo óptimo ante la pérdida de eficacia. En este sentido, se está desarrollando un proyecto multicéntrico coordinado desde el hospital de La Princesa con el objetivo de identificar, en pacientes con EC, genes predictores de la respuesta clínica al tratamiento anti-TNF, así como conocer la correlación entre los niveles de TNF α sérico y la respuesta al tratamiento, identificar los mecanismos de producción de anticuerpos contra los fármacos anti-TNF para identificar los pacientes con un mayor riesgo de inmunogenicidad y, por último, evaluar la influencia de los niveles séricos de los fármacos anti-TNF y de los anticuerpos contra el fármaco en la respuesta a corto y largo plazo, en la pérdida de respuesta y en la respuesta a la intensificación del tratamiento.

Por otra parte, a partir de estudios básicos con una amplia trayectoria experimental también se están concretando innovadoras propuestas terapéuticas capaces de regular la inmunidad innata del intestino en la EII.

Cuando existe daño estructural permanente en el intestino, con estenosis sintomática, el tratamiento quirúrgico es la opción terapéutica más utilizada. Sin embargo en pacientes con estenosis cortas se han empezado a utilizar tratamientos endoscópicos que pretenden preservar al máximo el intestino. En este sentido hay en marcha 2 ensayos clínicos controlados

multicéntricos, con participación de más de 20 hospitales en España, para evaluar la eficacia de dilatación con balón versus prótesis o de dilatación más inyección de adalimumab intralesional. No existen hasta la actualidad ensayos clínicos realizados en enfermedad de Crohn que evalúen la eficacia de la terapéutica endoscópica.

Finalmente, respecto de la optimización del tratamiento se han iniciado líneas de investigación colaborativas para establecer la estructura mínima y los estándares adecuados para el manejo de la EII, así como para el estudio de las repercusiones sociales y laborales de la EC.

2.4. Seguridad de los tratamientos para la EII

Uno de los aspectos fundamentales para el manejo de la EII es conocer la seguridad de los fármacos en la práctica clínica. Los ensayos clínicos presentan importantes limitaciones en este sentido, ya que los pacientes incluidos son en general jóvenes; el período de seguimiento es corto, por lo que es difícil detectar efectos adversos que aparezcan tras un período de latencia largo; no se incluyen pacientes gestantes, por lo que no podemos conocer la seguridad en el embarazo ni los riesgos en el recién nacido y, finalmente, el tamaño muestral suele ser limitado, por lo que es difícil detectar acontecimientos adversos raros o poco frecuentes.

En este sentido, se han puesto en marcha diversos estudios multicéntricos con el objetivo de conocer la seguridad de los fármacos empleados en la EII en la práctica clínica:

- A) Estudio del riesgo del tratamiento con fármacos anti-TNF e inmunosupresores en el desarrollo de tumores, y aparición de infecciones,
- B) Seguridad del tratamiento con fármacos anti-TNF durante la gestación e impacto en el desarrollo de los niños expuestos a estos fármacos en el embarazo.
- C) Identificación de nuevas asociaciones de genes con el desarrollo de toxicidad secundaria a tiopurinas.
- D) Evaluación del riesgo relativo de mortalidad en pacientes con EII, así como de los factores asociados al incremento del riesgo.
- E) Prevalencia de infección por virus de la hepatitis B y C y el riesgo de reactivación relacionada con la inmunosupresión.

2.5. Estudio de la respuesta inmune en los pacientes con EII

Aunque la evidencia todavía es escasa, existen datos que sugieren una disminución importante de la tasa de respuesta a las vacunas en los pacientes con EII. Por ejemplo, en el caso de la vacuna para el VHB, el porcentaje de individuos sanos que presentan una respuesta adecuada es del 95%, mientras que en los pacientes EII es de sólo el 60% aproximadamente. Actualmente se está desarrollando un estudio multicéntrico nacional, coordinado desde el Hospital de La Princesa, para conocer la respuesta a la vacunación del VHB en pacientes con EII y comparar dos tipos diferentes de vacuna en estos pacientes. La importancia de este estudio radica en que, probablemente, permita conocer cuál es la vacunación (pauta y tipo de vacuna) más eficaz en los pacientes con EII y establecer recomendaciones al respecto.

En el contexto de este ensayo clínico, se está realizando un estudio de las células sistema inmune en sangre periférica en los pacientes con EII comparándolo con un grupo de controles

sanos que van a recibir la vacuna del VHB por indicación médica. Esto permitirá comparar las diferencias basales en cuanto a la distribución de las células del sistema inmune entre los pacientes con EII y la población sana. Pero además, al ser pacientes expuestos a un antígeno con capacidad para estimular el sistema inmune (la vacuna del VHB), podremos obtener información sobre la fisiología de la respuesta a las vacunas y las diferencias entre los pacientes con EII y la población sana. Los primeros resultados de estos estudios serán obtenidos durante el 2014

2.6 Indicadores de calidad en la EII

Las EIIs tienen un impacto sustancial en la salud de los pacientes, el funcionamiento social y la calidad de vida. El cuidado óptimo para estos pacientes incluye alcanzar la remisión, evitar las complicaciones relacionadas con el tratamiento. Esto permite lograr un funcionamiento social normal y normaliza la calidad de vida. Esta atención requiere la acción coordinada de una serie de profesionales de la salud que son miembros de las Unidades de Atención a la EII.

Aunque las guías clínicas disponibles son útiles para el manejo de la EII, no cubren todos los factores que deben ser integrados para proporcionar la mejor atención. Aspectos como un enfoque multidisciplinario, o los procesos y la estructura que se requieren para la atención óptima de los pacientes pueden ser tan importantes como la disponibilidad y el uso adecuado de medicamentos eficaces. Además, se ha demostrado que un manejo experto puede disminuir la morbilidad, la cirugía e incluso mortalidad en pacientes con EII. Mientras que se acepta que la Unidades de EII facilitan la prestación de una atención de calidad a los pacientes con EC y CU, no queda claro cómo se debería definir una unidad de EII. En concreto, no se han establecido los requisitos mínimos que debe cumplir la unidad, las tareas y los procedimientos que una unidad debe realizar o cómo medir su funcionamiento básico. Es fundamental desarrollar de manera sistemática Indicadores de Calidad (QI) de estructura, proceso y de resultado que permitan la evaluación de su calidad, y la identificación de áreas de mejora.

Uno de los objetivos del programa 6 es crear y aplicar indicadores de calidad tanto a nivel individual del paciente como a nivel de las unidades de enfermedad inflamatoria intestinal.

2.7 Aspectos socio-laborales en la EII

La EII tiene un curso clínico crónico con fases de remisión y periodos de inflamación activa, en los que pueden haber complicaciones, más frecuentes cuando la EII es muy extensa. A menudo para controlar la inflamación es necesario realizar intervenciones quirúrgicas o administrar medicaciones agresivas, que pueden tener efectos secundarios importantes. El curso crónico de la enfermedad, los tratamientos y las cirugías pueden afectar la calidad de vida y la capacidad laboral de los pacientes. Esto es importante, ya que la EII suele afectar a

pacientes jóvenes, social y laboralmente activos. Los aspectos laborales –a menudo infravalorados desde el punto de vista asistencial, son especialmente importantes para los pacientes por que representan una importante limitación a su autonomía.

No sabemos qué porcentaje de pacientes con EII presenta algún grado de discapacidad. Por ello, se pretende cuyo objetivo es determinar cuántos pacientes tienen concedida una pensión por invalidez o algún grado de discapacidad. También es importante como se correlacionan estos parámetros con el grado de discapacidad tienen los pacientes de acuerdo a su propia percepción).

Tampoco está establecido que síntomas o complicaciones de la EII son criterios de discapacidad o minusvalía en el ámbito laboral. Por ello también se pretende validar un cuestionario auto-reportado de Discapacidad en pacientes EII. También se pretende validar un nuevo cuestionario de discapacidad que ha publicado un grupo de trabajo internacional.

3. Línea de investigación en neurogastroenterología

Aproximadamente la mitad de los pacientes que acuden a una consulta de gastroenterología presentan síntomas sin una causa orgánica detectable. En estos pacientes se asume que los síntomas están producidos por una alteración de la función digestiva. En algunos casos se pueden detectar alteraciones específicas de la motilidad digestiva, pero en otros casos la causa de los síntomas no queda clara. Dentro de la línea de investigación en neurogastroenterología se van a abordar una serie de aspectos en relación a los mecanismos de control de la motilidad, el papel que juegan los mastocitos en las alteraciones funcionales, el desarrollo de modelos animales de enfermedad, y los métodos para el diagnóstico de estas alteraciones.

Dentro de los mecanismos de control se va a estudiar el efecto de tres mediadores potencialmente importantes. En primer lugar se va a estudiar la fisiopatología de la disfagia orofaríngea asociada al envejecimiento y a las enfermedades neurodegenerativas y vamos a desarrollar tres grupos de estudios destinados a: a) estudiar la expresión de receptores de la familia TRP en la orofaringe y laringe humanas; b) caracterizar la farmacodinamia in Vitro de diferentes agonistas de estos receptores, c) evaluación del efecto terapéutico in vivo de diferentes agonistas en pacientes con disfagia. En esta línea de trabajo la caracterización de los receptores TRPV1, TRPA1 y TRPM8 en muestras de orofaringe humana mediante rtPCR y Western blot y el desarrollo de un bioensayo con células PAC que expresan estos receptores ha permitido seleccionar agonistas específicos y el desarrollo de dos estudios clínicos en pacientes que han demostrado que es posible mejorar la respuesta motora orofaríngea mediante la adición de la capsaicina o piperina al bolo alimentario, abriendo la posibilidad de un tratamiento farmacológico completamente novedoso de la disfagia neurógena y asociada al envejecimiento. La exploración de nuevas dianas farmacológicas mediante estudios básicos y el desarrollo de ensayos clínicos a largo plazo con las ya identificadas son nuestro siguiente paso.

Este avance nos ha permitido también el desarrollo de estudios en los que hemos estimulado la vía aferente al centro de la deglución del tronco cerebral mediante estímulos eléctricos transcutáneos o intrafaríngeos e iniciado el estudio de los mecanismos de activación cerebral cortical mediante electroencefalografía multicanal. Estos estudios se realizan en el marco de un ensayo clínico de dos años de duración cuyo objetivo es seleccionar el tratamiento más efectivo para la disfagia orofaríngea que presentan alrededor del 50% de los pacientes que han sufrido un ictus y evitar así sus graves complicaciones como la malnutrición y la neumonía aspirativa.

El objetivo para 2015 es el desarrollo de un estudio que evalúa el efecto de la estimulación del córtex cerebral de forma no invasiva mediante estimulación magnética repetitiva y el desarrollo de estrategias combinadas de estimulación central y periférica. También hemos concluido un primer grupo de estudios clínicos y básicos destinados a caracterizar mediante pirosecuenciación la microbiota oral en pacientes con disfagia en los que hemos observado colonización por patógenos respiratorios en el 60% de pacientes y establecido los tres factores de riesgo que causan este tipo de neumonía tan frecuente en el anciano: a) los mecanismos de colonización orofaríngea y su relación con la mala higiene oral y las enfermedades periodontales; b) las alteraciones de los mecanismos de protección de la laringe durante la deglución; y c) las condiciones nutricionales e inmunitarias del huésped. También dos estudios clínicos ya concluidos han probado la causalidad de la asociación entre la disfagia y la

malnutrición, especialmente en pacientes ancianos. El siguiente paso son estudios de intervención ya diseñados (intervención mínima-masiva) en los que queremos demostrar que es posible tratar la disfagia y evitar estas complicaciones nutricionales y respiratorias. En 2015 nuestro grupo organizará un congreso Europeo sobre el tema organizado por nuestro grupo nos permitirá desarrollar dos guías de práctica clínica a nivel europeo en colaboración con varias sociedades científicas y establecer position statements de aplicación a la práctica clínica.

En este área hemos iniciado una colaboración con la Universidad Pompeu Fabra para evaluar el impacto económico y la relación coste-beneficio de las intervenciones terapéuticas en pacientes con disfagia de cara a su incorporación como tratamiento habitual por el Sistema Nacional de Salud. El gran reto para 2015 es el inicio de una estrategia que va a permitir pasar de tratamientos compensadores a tratamientos de neuroestimulación que permitan mejorar la función deglutoria.

En el área del control neuroendocrinológico de la motilidad digestiva nuestros estudios se centran en dos trastornos muy prevalentes. Por un lado hemos concluido un estudio clínico que demuestra una alta prevalencia de reflujo gastroesofágico en pacientes con colestitis estudiados tanto mediante cuestionarios de síntomas como con exploraciones funcionales y pHmetría. Esta alteración está asociada a una disminución del vaciamiento vesicular y a alteraciones en la liberación postprandial de CCK que se mantienen después de colecistectomía laparoscópica y que también causan reflujo gastroesofágico en los pacientes colecistectomizados como una parte relevante del frecuente síndrome postcolecistectomía que afecta a 1/3 de los pacientes después de la intervención. Por otro lado hemos caracterizado las alteraciones del vaciamiento gástrico y vesicular y del tránsito intestinal en ancianos y su relación con los péptidos del ileal brake del intestino distal, especialmente el GLP-1 como mediadores de la anorexia asociada al envejecimiento. En ambos casos el siguiente paso son estudios intervencionales que permitan desarrollar nuevas estrategias farmacológicas para estas dos patologías tan prevalentes. En esta área hemos incluido un grupo de estudios epidemiológicos que relacionan los cambios en los niveles plasmáticos de los péptidos que controlan el apetito (Ghrelin y GLP) con el desarrollo de sarcopenia en el anciano y un grupo de estudios de motilidad gastrointestinal y eje entero-endocrino en obesos mórbidos y el efecto de la cirugía bariátrica. Los estudios demuestran claramente una alteración en los mecanismos de control de GLP-1 y CCK en obesos mórbidos que revierten parcialmente con la cirugía bariátrica.

Los mecanismos neuronales de control intrínseco de la motilidad intestinal y los neurotransmisores implicados en la relajación y contracción de la capa muscular del tubo digestivo no se conocen completamente y ocupan un área relevante de nuestra investigación básica. Nuestro principal esfuerzo en este área ha sido el desarrollo de estudios fisiológicos en tejido gastrointestinal humano y la incorporación de técnicas de inmunología y biología molecular que complementan la información obtenida mediante los estudios fisiológicos y la traslación al estudio de las neuromiopatías asociadas a enfermedades motoras del colon (enfermedad diverticular), esfínter anal interno (fisura anal), e intestino delgado (pseudoobstrucción intestinal idiopática). Muchos de estos estudios se hallan en una fase madura de evolución y permitirán mejorar nuestro conocimiento sobre la fisiopatología de estas frecuentes enfermedades motoras digestivas. La metodología de estudio supone caracterizar los mecanismos de control de la actividad motora tónica y fásica estómago y en el colon humano, mediante el estudio *in vitro* de tiras musculares procedentes de segmentos intestinales obtenidos de pacientes intervenidos quirúrgicamente. Se estudia la relación de la actividad neuromuscular con el sistema marcapasos del colon mediante técnica de baño de

órganos y electrofisiología y los mecanismos de co-neurotransmisión nitrérgica y purinérgica que atribuyen a cada uno de estos neurotransmisores inhibitorios del sistema nervioso entérico un papel específico en la neurotransmisión tónica (NO) y fásica (purinas) del tracto gastrointestinal. También vamos a caracterizar el efecto in vitro de los péptidos GLP-1, CCK y Grelina en la motilidad gástrica humana in vitro.. Nuestro objetivo es también iniciar el desarrollo de un biobanco que permita preservar el tejido y material genético procedente de estos pacientes caracterizados fenotípicamente, la colaboración transversal con otros grupos Ciberehd interesados en estas patologías y el establecimiento de un registro nacional para enfermedades motoras graves e infrecuentes como la acalasia esofágica. Dada la dificultad de los estudios de motilidad en enfermedades que afectan al intestino, también se van a desarrollar unos modelos experimentales en animales que reproduzcan las características de la enfermedad en humanos y que permitan caracterizar las alteraciones de la función intestinal en pacientes con SII incluyendo las potenciales interacciones entre el NGF y los mastocitos de mucosa y el estudio de animales modificados genéticamente (P2Y1 knockout mice). Una de las áreas en las que la interacción entre investigadores clínicos y básicos ha sido fructosa es la evaluación de la activación mastocitaria en el fracaso intestinal asociado al ileo postoperatorio en la que hemos evidenciado una potencial diana farmacológica para desarrollar futuros tratamientos para estos pacientes.

Tanto el SII como la dispepsia funcional presentan una clara predominancia en el sexo femenino (2:1). El origen y los mecanismos fisiopatológicos de estas enfermedades no se ha establecido aunque numerosas evidencias apuntan a que tanto el estrés psicológico crónico, como las infecciones gastrointestinales o incluso las extra-intestinales, pueden ser factores etiopatogénicos claves, en particular en el género femenino. Un posible nexo entre la mayor afectación del género femenino, el estrés crónico y las infecciones podría ser la barrera intestinal, por su papel nuclear en el mantenimiento de la homeostasis intestinal. Estudios pioneros realizados en nuestro grupo en mujeres sanas, demuestran que el estrés crónico psicosocial se provoca una notable disfunción de la barrera epitelial, que se caracteriza por una reducción en la secreción de agua y un aumento de la permeabilidad en respuesta a estímulos intercurrentes. Además, más recientemente hemos demostrado que el género femenino, en ausencia de estrés crónico, presenta una respuesta diferencial de la barrera intestinal al estrés agudo, que se caracteriza por un aumento de la permeabilidad epitelial y por alteraciones metabonómicas que no se reproducen en el género masculino. En un modelo de estrés agudo vamos a analizar los mecanismos últimos que regulan la disfunción de la barrera intestinal en respuesta al estrés y a identificar los biomarcadores de esta disfunción a través de un análisis metabonómico de los diferentes fluidos biológicos.

El mastocito, residente habitual de la mucosa intestinal, es una célula clave en la modulación de la respuesta de la barrera intestinal al estrés. Su situación estratégica y su proximidad a las terminaciones nerviosas facilitan la comunicación multidireccional entre el mastocito, los sistemas nerviosos entérico y central, el sistema inmune y la flora intestinal. Evidencias experimentales han demostrado que los cambios morfológicos y funcionales del epitelio intestinal en respuesta al estrés están mediados por la activación mastocitaria. Estudios realizados en humanos también indican un marcado aumento de la secreción y permeabilidad intestinal y colica mediadas por la activación mastocitaria en respuesta a la exposición a un estrés experimental. Hemos investigado el papel del mastocito y del eosinófilo en el proceso de microinflamación, realizando un análisis morfológico y molecular del fluido intestinal y de la mucosa intestinal en modelos de estrés en humanos y en animales de experimentación. También hemos estudiado la activación mastocitaria en pacientes con ileo postoperatorio demostrando que los pacientes intervenidos quirúrgicamente que desarrollan ileo

postoperatorio presentan niveles elevados de triptasamastocitaria en el líquido peritoneal. Así mismo, experimentos *in vitro*, demuestran que la activación mastocitaria provoca una disminución de la actividad motora espontánea e inducida por estimulación del plexo mientérico en segmentos humanos de yeyuno, ileon y colon y nuestra investigación se dirige a la evaluación de los receptores PAR IV como mediadores de esta respuesta. Hemos presentado a la AEMPS una propuesta de prevención y tratamiento del ileo postoperatorio mediante estabilizadores de los mastocitos. Por otro lado diversos miembros de los grupos del área colaboran con investigadores de otros centros internacionales en el estudio de las alteraciones de la permeabilidad esofágica asociadas al reflujo gastroesofágico y a la esofagitis por reflujo y a su relación con los síntomas de los pacientes. Dos de estos estudios se encuentran en la fase final de campo y se espera su publicación durante 2015.

Los métodos que se utilizan actualmente para el diagnóstico de los trastornos funcionales digestivos tienen una sensibilidad relativamente baja, de forma que en gran parte de los casos no se pueden identificar alteraciones objetivas. Dentro de esta línea de investigación se ha desarrollado un método no invasivo para la evaluación de la motilidad digestiva mediante la cápsula endoscópica. En un estudio previo se ha demostrado que esta técnica tiene una sensibilidad equiparable a la motilidad intestinal, método diagnóstico de referencia actual, para detectar alteraciones severas de la motilidad. En el siguiente paso se va a determinar su utilidad para diagnosticar alteraciones no detectables mediante manometría en pacientes con síndromes funcionales digestivos y su subclasificación con base fisiopatológica, en vez de puramente clínica. En este sentido se ha presentado una propuesta Horizon 2020 (The role of the enteric nervous system in functional gastrointestinal disorders and its comorbidities) con otros 10 Centros Europeos. La distensión abdominal es un síntoma frecuente, sobre todo en pacientes con trastornos funcionales. Se ha desarrollado una metodología para el estudio de los mecanismos fisiopatológicos en estos pacientes, que se va a aplicar al estudio de la actividad toraco-freno-abdominal, combinando técnicas de imagen con electromiografía. En el área orofaríngea hemos validado un método de screening clínico (EAT-10) y de diagnóstico clínico (Volume-Viscosity Swallow Test) que permiten establecer con una elevada precisión diagnóstica y de una forma positiva un diagnóstico clínico de esta enfermedad y seleccionar a los pacientes que requieren exploraciones complementarias más complejas. La disfagia orofaríngea es una enfermedad reconocida por la Organización Mundial de la Salud e incluida en la clasificación ICD. Finalmente el proceso diagnóstico de la disfagia se complementa con el estudio videofluoroscópico del cual hemos recibido un título de propiedad de una patente en USA (28 Aug 2012, US8251927) que nos debe permitir iniciar negociaciones con compañías capaces de industrializar y comercializar este equipo.

La línea de investigación en Neurogastroenterología ha organizado una red de formación en investigación junto con otros 11 Centros Europeos y 2 Empresas financiado por el programa

Marie Curie Initial Training Networks (ITN) Call: FP7-PEOPLE-2013-ITN (2014-2017).

3. GRANDES PROYECTOS DESTACABLES

Entre los proyectos concretos que conforman las Grandes Líneas de Investigación (patología esofagogastroduodenal, enfermedad inflamatoria intestinal y neurogastroenterología) queremos detallar aspectos de algunos de ellos que, por su relevancia científica, carácter traslacional y esfuerzo colaborativo entre los distintos grupos de investigadores de CIBERehd, merecen una mención especial.

PROYECTO 1. IDENTIFICACIÓN DE FACTORES AMBIENTALES Y GENÉTICOS DE RIESGO DE LESIONES Y COMPLICACIONES DE LA MUCOSA ESOFAGO-GASTRO-INTESTINAL ORIENTADAS AL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

Grupos CIBERehd implicados. IIS Aragón-Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Hospital Clínico Universitario. Zaragoza. Servicio de Digestivo. Hospital La Fe de Valencia. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínic y Provincial de Barcelona Servicio de Digestivo. Hospital de Sabadell. Barcelona. Servicio de Digestivo. Hospital de La Princesa de Madrid. Servicio de Digestivo. Hospital Donostia. San Sebastian. Departamento de Farmacología.

Bases Racionales: El desarrollo de complicaciones como hemorragia, perforación, obstrucción o ulceración del tracto gastrointestinal es un problema de primera magnitud que condiciona la salud de más del 10% de la población en algún momento de su vida. De hecho se considera que la incidencia anual supera los 100 casos por cada 100.000 habitantes y año. Durante la última década se han producido notables avances en la identificación de agentes que condicionan en gran medida este problema e incluyen, entre otros, la infección por *H. pylori*, los tratamientos antirreumáticos con AINEs, ácido acetilsalicílico, antiagregantes, o anticoagulantes y la hiperacidez. Sin embargo, la investigación se ha centrado de forma mayoritaria en los fenómenos asociados a lesiones en el tracto gastrointestinal superior, mientras que el desarrollo de complicaciones en el tracto gastrointestinal inferior es un área poco explorada pero existe constancia en base a nuestros estudios que su impacto clínico es a día de hoy similar al que se tiene con el tracto gastrointestinal superior. Hoy en día un problema emergente clave que precisa mayor definición es el impacto del uso de los nuevos agentes antiagregantes y anticoagulantes que esta siendo utilizado por una proporción elevada de una población cada vez mas envejecida y con más com-morbilidad.

Uno de los problemas no resueltos es que mientras el efecto de estos agentes debiera ser universal, el desarrollo de lesiones solo se da en una parte pequeña de la enorme proporción de personas expuestas a los mismos. Se considera que las interacciones con factores genéticas pueden estar detrás de la susceptibilidad al daño que presentan algunos de estos pacientes. Este proyecto prevee por un lado investigar el efecto de factores ambientales como fármacos, en el desarrollo de lesiones y complicaciones en el tracto gastrointestinal como en definir los factores genéticos de predisposición al daño bien asociados al metabolismo de fármacos, defensa de la mucosa, fenómenos de reparación o respuesta inflamatoria e inmune. Por otro lado es importante definir la expresión fenotípica de la inhibición de COX con los diferentes agentes tanto a nivel sistémico como local a nivel de la propia mucosa gastroduodenal.

Por otra parte, existen lagunas importantes en las formas disponibles de prevención y tratamiento del daño. Mientras que algunas de las medidas actuales son efectivas, como el uso

de antisecretores o utilización de fármacos con menor capacidad lesiva (inhibidores de la COX-2), o erradicación de la infección por *H. pylori*, estas no garantizan la prevención o reparación del daño en su totalidad en el órgano diana, debido a déficit de eficacia (insuficiente inhibición del daño, resistencias bacterianas, daño por inhibición de prostaglandinas dependientes de la COX-2) o no tienen ningún efecto en extensas áreas del tracto digestivo susceptibles al daño.

Para avanzar en este aspecto, este proyecto prevee la identificación de factores de riesgo específicos, dianas terapéuticas precisas y de agentes terapéuticos más efectivos en los diferentes tramos del tracto gastrointestinal.

Contexto Internacional: Este proyecto se enmarca dentro de los esfuerzos que los grandes grupos de investigación a nivel internacional están llevando a cabo con objetivos similares. La participación del IP en estudios colaborativos con grupos europeos, Hong-Kong y Estados Unidos va a permitir potenciar y desarrollar aspectos de índole mecanístico con la Dra Paola Patrignani en Italia y Garrett Fitzgerald en USA, mientras que el desarrollo de aspectos epidemiológicos será con Luis García-Rodríguez, y grupos americanos de la Universidad de Texas y Michigan.

Fuentes cofinanciadoras: Ministerio de Ciencia y Tecnología, Fondo de Investigaciones Sanitarias, Industria Farmacéutica, Gobierno de Aragón

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	6/2010	Permiso Comites Éticos de Investigación Clínica (CEIC),	Proyecto. Cuestionarios
II	12/2010	Establecimiento del banco de sangre y ADN	Acuerdo con I+CS para utilizar biobanco
II	1-12/2011	Recogida muestras de sangre y cuestionarios	Repositorio muestras plasma y ADN
III	11/2011	Análisis de datos clínicos	Calculadora riesgo GI "on line"
IV	12/2011	Estudios clínicos sobre evaluación de inhibición de COX en sangre y mucosa	Repositorio de muestras de plasma y ADN
IV	12/2012	Genotipado muestras	Control de calidad

	6/2013	Análisis computacional	Estudio asociación genotípica
IV	6/2013	Análisis asociación enfermedad / genotipo	Determinación de genes de susceptibilidad
IV	6/2013	Análisis interacciones variantes alélicas / consumo de fármacos / H. pylori	Determinación de interacciones genes / factores ambientales
V	2/2014	Protocolo de nuevo estudio que evalúe el impacto de los nuevos fármacos anticoagulantes y antiplaquetarios en el tracto GI	Proyecto. Cuestionario Permiso del Comité de ética
V	10/2014	Extensión de estudio con anticoagulantes a otros centros	Base de datos establecida y funcionando
VI	12/2014	Análisis final de los datos genéticos de los estudios casos control con AINE y AAS	Manuscritos
VI	4/2015	Determinaciones/resultados de los estudios funcionales de inhibición de COX	Reporte provisional de los datos
VI	6/2015	Análisis final de los datos funcionales inhibición de COX	Manuscritos/publicación
VII	9/2015	50% de la casuística del estudio con anticoagulantes recogida	Presentación de los resultados
VII	10/2015	Estudio genético de los estudios casos control con AINE y AAS	Publicación
VIII	1/2015	Permiso Comités Éticos de Investigación Clínica (CEIC)	Proyecto.
VIII	12/2015	Estudios inmunohistoquímicos de expresión de transportadores de H ⁺ en muestras humanas de EB y ACE	Determinación expresión bombas transportadoras de H ⁺ en carcinogénesis esofágica

PROYECTO 2: MICROBIOTA Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Centros CIBER-EHD implicados: Hospital La Fe de Valencia (IP: Pilar Nos), Hospital ParcTaulí de Sabadell (IP: Xavier Calvet), Hospital Vall d'Hebron de Barcelona (IP: Francisco Guarner).

Bases Racionales: La etiopatogenia de las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino (EII) se relaciona con una respuesta exagerada del sistema inmune frente a los microorganismos presentes en las superficies mucosas del tubo digestivo. No se ha podido implicar una especie o género microbiano patógeno determinado como responsable de la inducción la respuesta inmune exagerada y de las lesiones intestinales. De hecho, las estrategias terapéuticas basadas en fármacos con capacidad de controlar/suprimir la respuesta inmune por mecanismos de especificidad variable (corticoides, azatioprina, biológicos anti-TNF, etc.) son mucho más eficaces que los tratamientos dirigidos contra la población microbiana (antibióticos). Si no hay unos agentes infecciosos responsables del trastorno, falta entender cuál es o cuáles son las causas primarias que provocan la disfunción del sistema inmune.

Podría tratarse de una alteración primaria del sistema inmune que responde agresivamente frente a las colectividades microbianas no patógenas que colonizan el intestino. En este sentido la identificación de determinados polimorfismos genéticos que se asocian a riesgo e incidencia de EII demuestra que existen defectos primarios en el sistema inmune que condicionan la aparición de enfermedad. Por otra parte, el comportamiento epidemiológico de las EII, que aparecen y crecen como una plaga en las sociedades con alto desarrollo socio-económico, indica que hay factores ambientales determinantes de su incidencia.

Uno de los factores ambientales más invocados es la población microbiana del intestino ya que está directamente relacionada con el trastorno de los mecanismos inmunitarios. Diversos estudios han apuntado existencia de disbiosis en los pacientes con EII. La disbiosis se define como composición anormal de las comunidades microbianas que pueblan el intestino (microbiota intestinal). Sin embargo no existe consenso en cuanto a cuál sería la composición normal de la microbiota intestinal, y por tanto resulta difícil valorar el significado biológico de la disbiosis en EII. Los avances tecnológicos recientes basados en secuenciación masiva y análisis bio-informático están proporcionando información muy novedosa. Nuestra línea de investigación aplicará las nuevas tecnologías para investigar diversidad y funcionalidad (metagenómica) de la microbiota intestinal en pacientes con EII.

Contexto Internacional: En los últimos dos años se ha constituido el International Human Microbiome Consortium (IHMC, www.human-microbiome.org) con la participación de agencias públicas financiadoras (NIH, Comisión Europea, etc.) y grupos científicos que colaboran en el proyecto de definir la microbiota humana con el fin de compartir procedimiento, tecnología y datos. El Ciber-ehd participa en el IHMC a través de sus investigadores, aunque no

institucionalmente, de tal modo que tenemos plena capacidad y accesibilidad de utilizar todos los recursos del IHMC (tecnologías, bases de datos, software y estrategia de análisis, etc.).

Fuentes cofinanciadoras: Comisión Europea (proyecto MetaHIT, proyecto IHMS). Posible participación de la industria (UCB, Danone, Bio-Merieux).

Fases del proyecto

Fecha	Hito	Entregable
06/2010	Diseño y aprobación de protocolos clínicos: 2 estudios transversales caso-control, 3 estudios de cohorte	
06/2010	Desarrollo Tecnológico: desarrollo de standards internacionales para extracción de DNA	
12/2010	Desarrollo tecnológico: protocolos de secuenciación masiva por pirosecuenciación de DNA nativo sin PCR previa	
06/2012	Desarrollo tecnológico: Análisis bioinformático	Resultados estudio transversal colitis ulcerosa (UC)
12/2014		Resultados estudio transversal Crohn (CD)
06/2015		Resultados estudios de cohorte (UC y CD)
12/2016		Resultados estudio Anti-TNF

PROYECTO 3: ESTUDIO DE LA FISIOPATOLOGÍA DE LOS SÍNTOMAS Y COMPLICACIONES ASOCIADOS A LA DISFAGIA OROFARÍNGEA Y ESOFÁGICA CON APLICACIÓN ESPECÍFICA A LA VALIDACIÓN DE NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS, Y ESTANDARIZACIÓN DE LA PRÁCTICA CLÍNICA

Centros CIBER-EHD Implicados: *Hospital de Mataró, Barcelona, Hospital Clínic de Barcelona, Hospital de La Princesa Madrid. Grupo Español de Motilidad Digestiva (GEMD). Centro Coordinador: *Disfagia orofaríngea; **Disfagia esofágica.

a) Bases racionales:

a-1) Disfagia orofaríngea asociada a enfermedades neurológicas y envejecimiento.

La prevalencia de disfagia orofaríngea funcional en pacientes con enfermedades neurológicas es muy elevada. La disfagia orofaríngea ocasiona dos tipos de complicaciones de gran trascendencia clínica: a) en el 35% de pacientes disminuye la eficacia de la deglución causando malnutrición y/o deshidratación; b) en el 40% de los pacientes se produce una disminución de la seguridad de la deglución con aspiración traqueobronquial que ocasiona una neumonía en el 50% de los casos con una mortalidad asociada de hasta el 50%. Existe gran desproporción entre la prevalencia y la gravedad de las complicaciones asociadas a la disfagia orofaríngea y los escasos recursos sanitarios dedicados a estos pacientes. No se conoce la fisiopatología del trastorno motor orofaríngeo que la ocasiona y se requiere el desarrollo y validación de: a) herramientas diagnósticas a nivel de cribado clínico y exploraciones complementarias como la videofluoroscopia cuantitativa, b) desarrollo y validación de guías de práctica clínica (GPC) y c) nuevas opciones terapéuticas, incluido el manejo de complicaciones (nutricionales y respiratorias). Este programa de investigación se está cumpliendo gracias a la colaboración con la European Society for Swallowing Disorders que va a desarrollar una COST action específica en el programa Horizon 2020.

a-2) Disfagia esofágica asociada a acalasia y otros trastornos motores primarios.

La acalasia es un trastorno motor primario (TMP) causado por la pérdida selectiva de las motoneuronas inhibitorias del plexo mientérico esofágico con incremento en la presión basal y relajación incompleta del esfínter esofágico inferior (EEI) y pérdida de la contracción peristáltica. La manometría esofágica es la prueba diagnóstica con mayor sensibilidad y especificidad. El desarrollo de nuevas herramientas, como la manometría de alta resolución (MAR), ha permitido mejorar la clasificación y el diagnóstico de estos pacientes. Existen otros TMP que comparten síntomas con la acalasia, pero se diferencian por el patrón de dismotilidad y se tratan de manera empírica con amplia variabilidad en la práctica clínica. Un número significativo de los pacientes intervenidos y muchos más de los tratados con dilatación presentan síntomas recurrentes que pueden deberse a: a) fenómenos mecánicos como la persistencia de obstrucción mecánica a nivel del EEI y/o a la aperistalsis esofágica, y b) fenómenos relacionados con reflujo gastroesofágico por incompetencia de la unión gastroesofágica o acidificación de restos alimentarios o saliva por insuficiente aclaramiento

esofágico. Estos factores pueden caracterizarse mediante el uso combinado de métodos clínicos (cuestionarios de síntomas y calidad de vida) y exploraciones complementarias (MAR y estudio de impedancia-pH de 24 h). El mejor conocimiento del origen de los síntomas permitirá optimizar la toma de decisiones y el desarrollo de GPC. La información clínica y las exploraciones de los pacientes se están recogiendo de forma sistemática en tres centros (Hospital de La Princesa, Madrid, y Hospital de Can Ruti y Hospital de Mataró en Barcelona) Este programa de investigación va a desarrollarse en forma de una Acción Estratégica Ciber en cooperación con el Grupo Español de Motilidad Digestiva.

Necesidad de coordinación multicéntrica: El proyecto necesita de un elevado esfuerzo de coordinación entre grupos CIBER-ehd, y grupos colaboradores con base tecnológica, y del sector productivo/empresas de biomedicina y nutrición y el aval de diferentes sociedades científicas nacionales/internacionales por: a) Gran tamaño muestral requerido, en especial de enfermedades poco prevalentes como la acalasia esofágica; b) Experiencia en la enfermedad para una adecuada catalogación fenotípica de los pacientes; c) Tecnología de análisis de la respuesta motora orofaríngea; d) Desarrollo de GPC validadas.

Necesidad de Cooperación: Se integra el Ciber de Enfermedades Respiratorias, el Grupo Hospital Clínic-Hospital de Mataró (Dr. J. Almirall) para el desarrollo de estrategias de manejo de la neumonía aspirativa de origen orofaríngeo y esofágico. Cooperación con el Grupo Español de Motilidad Digestiva (GEMD) para el desarrollo del programa de acalasia y trastornos motores primarios.

Internacionalización: Se integran para supervisión e internacionalización de las GPC los grupos del Dr. Olle Ekberg (Universidad de Malmo) para la disfagia orofaríngea y el Dr. Daniel Sifrim (Barts and The London School of Medicine, University of London, UK. London) para la disfagia esofágica y el Dr. A. Laviano (Complicaciones Nutricionales, ESPEN). La coordinación internacional se ha vehiculado a través de la European Society of Swallowing Disorders (ESSD) y la ESPEN, European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. Cooperación con la European Society for Swallowing Disorders para el desarrollo de una acción COST en el programa Horizon 2020 en el 2015.

Sociedades Científicas participantes: Dado que un objetivo principal es el desarrollo de algoritmos diagnósticos y terapéuticos y guías de práctica clínica se incluye la participación de sociedades científicas con interés en el área: European Society for Swallowing Disorders, ESPEN-European Society for Clinical Nutrition and Metabolism, AEG. Asociación Española de Gastroenterología, Sociedad Española de Cirugía. Grupo Español para el estudio de la Motilidad Digestiva.

Fuentes cofinanciadoras: Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias, Tecnocampus Mataró, Industria: Nestlé Medical Nutriton, Image&Physiology SL. NesteSpain ha financiado la publicación de la Primera Guía de Práctica Clínica en Castellano (Editorial Glosa, ISBN 978-84-7429-497-2) y Nestlé NutritonInsititute ha financiado la publicación de una Monografía que recoge las ponencias discutidas en el 72nd NNI Workshop celebrado en Mataró, Barcelona. La compañía Nutricia ha financiado un módulo educativo por internet desarrollado por la European Society for Swallowing Disorders (ESSD) y ofrecido a través de la Plataforma Univadis.

Fases del proyecto

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	12/2010	Inicio Estudio Prospectivo en pacientes con disfagia orofaríngea y acalasia/otros TMP no tratados previamente.	Protocolos y métodos de Estudio (métodos clínicos, cuestionarios de calidad de vida, MAR, impedancia-pH, Videofluoroscopia, valoración nutricional y respiratoria)
	12/2011	Inicio estudio de los pacientes tratados por acalasia/otros TMP	
II	12/2012	Análisis 100 pacientes/año con disfagia orofaríngea.	Estudio sobre la fisiopatología de los síntomas asociados en cada enfermedad y sus complicaciones.
	12/2012	Análisis 100 pacientes año/ acalasia y 15-20 con otros TMP	
III	12/2013	Análisis 200 pacientes disfagia orofaríngea.	Guía de Práctica Clínica Disfagia Orofaríngea. Publicada.
	12/2014	Análisis 200 pacientes acalasia y 30-40 con otros TMP.	Guía de Práctica Clínica manejo pacientes tratados por acalasia
IV	12/2015	Validación de las guías de práctica clínica en cada centro.	Publicaciones sobre la fisiopatología de los síntomas y sus complicaciones. Guías de práctica clínica validadas por sociedades científicas. ESSD, ESPEN

PROYECTO 4: BIOBANCO IMIDs DIFERENCIAL (IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES Y NUEVAS TERAPIAS, SUBPROGRAMA INNPACTO)

Centros CIBER-EHD Implicados: Coordinadores: Hospital de La Princesa, Madrid y Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona. Hospital Clínic, Barcelona. Hospital Gregorio Marañón, Madrid. Hospital de Donostia, Hospital La Fe Valencia.

Bases racionales: La medicina personalizada representa un cambio revolucionario en la aproximación fundamental y en la práctica de la medicina. Uno de los aspectos que más dictan la capacidad del especialista clínico para poder controlar el proceso inflamatorio crónico de las enfermedades inflamatorias mediadas por mecanismos inmunes (Immune Mediated Inflammatory Diseases, IMIDs) es el seguimiento de la evolución del paciente. No obstante, los biomarcadores actuales son altamente ineficientes y, en la mayoría de casos, no permiten anticipar los periodos de mayor actividad de la enfermedad. Además, el pronóstico de un enfermo con una IMID puede cambiar radicalmente si se interviene en las fases más tempranas de la enfermedad. A pesar de ser una necesidad clínica manifiesta, tampoco existen biomarcadores robustos que se hayan integrado en el proceso diagnóstico y que permitan clasificar al individuo en las etapas más tempranas.

En la última década, la introducción de nuevas terapias ha cambiado radicalmente el pronóstico de los enfermos con IMID. En particular, el área de agentes biológicos para enfermedades autoinmunes ha sido uno de los sectores de la industria farmacéutica que más desarrollo está experimentando. El especialista clínico cuenta cada vez con más armas para combatir las enfermedades IMID. No obstante, la decisión de qué terapia es la más adecuada para cada paciente en particular no ha evolucionado apenas. Son necesarios, por tanto, biomarcadores que nos permitan dirigir los pacientes hacia aquellas terapias que tendrán mayor probabilidad de éxito y evitar así tratamientos innecesarios, costosos y no exentos de riesgos. Otra innovación clave en campo será la obtención de datos genómicos o moleculares de forma poco invasiva (mediante análisis de sangre rutinarios) que estén claramente correlacionados con la actividad destructiva de estas enfermedades.

Gracias a los datos genómicos y moleculares obtenidos en el presente proyecto, se espera poder tratar a los pacientes con mayor especificidad y eficacia, pero con menos efectos secundarios, facilitar el desarrollo y validación de nuevas terapias dirigidas, mejorar la clasificación actual de las enfermedades y determinar de forma más precisa la predisposición a la enfermedad. Para ello se van a utilizar tecnologías de análisis masivo de última generación para caracterizar los siguientes aspectos cruciales en el manejo de las enfermedades IMID que, con las herramientas actuales, son cubiertos de forma ineficiente.

Necesidad de Cooperación: Se integran en el proyecto, además de los centros CIBER-EHD, el Grup de Recerca de Reumatologia del VallHebronInstitut de Recerca (GRR-VHIR) (Dra. S. Marsal), , y la Plataforma de Metabolómica de la Universitat Rovira i Virgili (Dr. X. CorreigBlanchar)

Internacionalización: El IMID-Biobank es un biobanco de referencia a nivel internacional y el presente proyecto contribuirá a su expansión, gracias a la inclusión de muestras longitudinales que darán lugar al primer biobanco dinámico especializado en IMIDs. Gracias a esta nueva fase de desarrollo, el biobanco, y por lo tanto España, se convertiría en una referencia mundial

en el estudio de estas enfermedades, un activo de gran duración y de altísimo valor para el estudio de nuevos tratamientos, nuevas estrategias terapéuticas y biomarcadores de enfermedad. En paralelo y en muestras obtenidas específicamente a tal efecto, se evaluarán nuevas indicaciones de fármacos preexistentes.

Fuentes cofinanciadoras: Ministerio de Ciencia y Tecnología (Programa INNPACTO) y la FundacióVallHebronInstitut de Recerca

Fases del proyecto

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	06/2012	Identificación y selección de biomarcadores y fenotipos de mayor relevancia en la práctica clínica	Protocolos y métodos de estudio
	06/2012	Inicio de la inclusión de pacientes en el estudio y obtención de muestras por el IMID-Biobank	
II	10/2013	Análisis genómico	Control de calidad. Estudio de asociación genotípica
	10/2014	Estudio de viabilidad	
III	10/2015	Análisis proteómico, metabolómico, citómico y transcriptómico	Determinación de biomarcadores válidos.
	10/2016		Guía de buenas prácticas de laboratorio para producción y preclínica

PROYECTO 5: EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DOS VACUNAS FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL Y SU IMPACTO EN EL SISTEMA INMUNE

Centros CIBER-EHD Implicados: Centro Coordinador: Hospital de La Princesa, Madrid. Hospital ParcTaulí, Sabadell. Hospital Germans Trias i Pujol. Hospital Clínic, Barcelona. Hospital Mútua de Terrassa.

Bases racionales: En España, la prevalencia de HBsAg positivo y anti-HBc positivo en los pacientes con EII es similar a la de la población general. Además, se han descrito reactivaciones de la infección hasta en un 7,5% de los casos en este tipo de pacientes. Estas reactivaciones se producen mayoritariamente en pacientes bajo tratamiento inmunosupresor y/o biológico, y en consecuencia esta inmunodepresión inducida hace que la infección por VHB tenga más posibilidades de desencadenar complicaciones graves.

Por otro lado, se ha descrito un descenso de los títulos de anti-HBs a lo largo del tiempo en los pacientes que respondieron inicialmente a la vacuna, observándose que la tasa de negativización de los anti-HBs en los pacientes con EII es de aproximadamente el 20% por paciente-año de seguimiento. En los individuos inmunocompetentes que negativizan los anti-HBs tras haber respondido a la vacuna se han descrito casos de infección por VHB, pero en todo caso han sido leves y sin evolucionar hacia la cronicidad; sin embargo, en los pacientes inmunocomprometidos que negativizan los anti-HBs tras la vacunación, sí se han descrito casos de infecciones por VHB graves, con insuficiencia hepática.

En la actualidad, la *European Crohn's and Colitis Organization*(ECCO) recomienda el estudio sistemático de la situación inmunológica de los pacientes con EII con respecto al VHB y la vacunación en los pacientes con serología negativa.

Recientemente se aprobado una vacuna frente a VHB con un nuevo adyuvante (AS04) que actúa como agonista de TLR4, y mediante esta vía de señalización induce la actividad de NF- κ B; además estimula directamente la maduración de monocitos y de células dendríticas, y actúa como mediador en la producción temprana de citocinas. De este modo, la interacción entre el adyuvante y el TLR4 junto con la vacuna aumentaría la respuesta inmune, proporcionando una respuesta Th1/Th2 más equilibrada, lo cual es esencial para generar una respuesta inmunológica efectiva frente al VHB. Por otro lado, los individuos respondedores tienen mayores niveles de células NK y NKT tras la vacunación, lo que sugiere que éstas juegan un papel importante frente a la infección por el VHB.

Por todo ello se ha desarrollado el ensayo clínico multicéntrico, coordinado desde el Hospital de La Princesa, COMVI-B, que recientemente ha comenzado la fase de reclutamiento, donde se compara la tasa de respuesta a la vacunación del VHB de dos tipos de vacuna –Engerix-B[®] y Fendrix[®]– en pacientes con EII. Ya que existen indicios suficientes de que los adyuvantes empleados en algunas de estas vacunas inducen con mayor potencia la formación de anticuerpos protectores frente a la infección, aunque los mecanismos por los cuales logran este objetivo no están bien establecidos. El objetivo principal de este estudio es comparar la tasa de respuesta a la vacunación del VHB de dos tipos de vacuna –la vacuna convencional (Engerix-B[®]) y una vacuna con adyuvante (Fendrix[®])– en los pacientes con EII. Además es necesario conocer las características inmunológicas basales de estos pacientes, su diferencia con los individuos sanos y el impacto de la vacuna en los mismos. Todo ello permitiría obtener información relevante sobre la inmunopatogenia de estos pacientes y, lo que es más importante, identificar dianas adecuadas para el empleo de nuevos adyuvantes que mejoren la eficacia de las vacunas. Por último, investigar cómo cambian las poblaciones celulares del sistema inmune a lo largo del tiempo después de recibir la vacuna permitirá entender mejor la cinética de descenso de anticuerpos protectores frente al VHB, y con ello explicar la pérdida de protección frente a esta infección.

Necesidad de Cooperación: El proyecto, coordinado por el Hospital de La Princesa, se realizará en colaboración con otros grupos CIBER-EHD para poder incluir de manera prospectiva a los pacientes del estudio según el tamaño muestral establecido y realizar los análisis en los laboratorios propios de cada hospital.

Sociedades Científicas participantes: Dado que un objetivo principal es el desarrollo de algoritmos diagnósticos y terapéuticos y guías de práctica clínica, se incluye la participación de sociedades científicas con interés en el área: Asociación Española de Gastroenterología (AEG) y Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (GETECCU).

Fuentes cofinanciadoras: Consocio de Apoyo a la Investigación Biomédica en Red (CAIBER); Proyecto prioritario en convocatoria intramuros. Beca Gonzalo Miño 2012 de la Asociación Española de Gastroenterología. Beca IX Geteccu-Otsuka 2012 para ciencias básicas sobre EII

Fases del proyecto

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	03/2012	Inicio del reclutamiento dentro del proyecto	
	03/2013	Finalización de inclusión de pacientes	
II	12/2013	Tiempo de tratamiento de los pacientes: 6 meses	Datos sobre el tratamiento y seguimientos de los pacientes del estudio
	05/2014	Tiempo de seguimiento de los pacientes: 14 meses	
III	10/2015	Fecha prevista de finalización del último paciente incluido: octubre 2014	Publicación de resultados e implementación de las Guías de práctica clínica validadas por sociedades científicas
	12/2015	Obtención de resultados	

PROYECTO 6: PREDICCIÓN DE RESPUESTA A CORTO Y LARGO PLAZO AL TRATAMIENTO CON FÁRMACOS ANTI-TNF α EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CROHN

Centros CIBER-EHD Implicados: Centro Coordinador: Hospital de La Princesa, Madrid. Hospital Vall d'Hebron, Barcelona Hospital ParcTaulí, Sabadell, Hospital Germans Trias y Pujol Badalona, Hospital La Fe, Valencia, Hospital de Donostia, San Sebastián.

Bases racionales: Los fármacos anti-TNF α han supuesto un hito en el manejo de la enfermedad de Crohn (EC), modificando su historia natural. El potencial riesgo de efectos adversos del tratamiento de estos fármacos junto con su elevado coste hace necesario el desarrollo de estrategias que permitan seleccionar a los pacientes que van a responder al tratamiento, así como el manejo óptimo ante la pérdida de eficacia.

En la actualidad, el consumo de fármacos y, en particular de fármacos biológicos, supone un gran porcentaje del gasto sanitario global. Esto plantea la necesidad de desarrollar medidas que permitan optimizar el tratamiento con estos fármacos y hacerlos sostenibles dentro del Sistema Nacional de Salud para que todos los pacientes que los requieran puedan beneficiarse de los mismos. En este contexto surge el presente estudio, para identificar estrategias que permitan por un lado identificar a los pacientes con EC que se puedan beneficiar del tratamiento con los fármacos anti-TNF α y, por otro, conocer los mecanismos de pérdida de eficacia e intolerancia a los mismos para tomar la decisión terapéutica más adecuada para el paciente. Para ello se requiere el desarrollo y validación de:

- a) identificar genes candidatos para predecir la respuesta clínica al tratamiento anti-TNF, en pacientes con EC;
- b) conocer la correlación entre los niveles de TNF α sérico y la respuesta al tratamiento;
- c) identificar los mecanismos de producción de anticuerpos contra los fármacos anti-TNF α para identificar los pacientes con un mayor riesgo de inmunogenicidad;
- d) evaluar la influencia de los niveles séricos de los fármacos anti-TNF α y de los anticuerpos contra el fármaco en la respuesta a corto y largo plazo, en la pérdida de respuesta y en la respuesta a la intensificación del tratamiento, en pacientes con EC.

Necesidad de Cooperación: El proyecto necesita la cooperación de otros grupos CIBER-EHD para la inclusión y seguimiento de pacientes. Así como del laboratorio de la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica para la realización del estudio genético. También colaboran el

laboratorio del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Alcalá de Henares para la determinación de los niveles anti-TNF α y anticuerpos frente al fármaco y de la empresa TEKNIKER, experta en nano ingeniería, para la medición de los niveles de TNF α .

Sociedades Científicas participantes: Dado que un objetivo principal es el desarrollo de algoritmos diagnósticos y terapéuticos y guías de práctica clínica se incluye la participación de sociedades científicas con interés en el área: Asociación Española de Gastroenterología (AEG) y Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (GETECCU).

Fuentes cofinanciadoras: Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III: FIS (PI12/02557) convocatoria 2012. XIII Beca GETECCU Faes – Farma destinada a proyectos clínicos.

Fases del proyecto

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	01/2013	Inclusión de pacientes y seguimiento	Protocolos y métodos de Estudio (recopilación de parámetros analíticos)
	01/2015	Fin seguimiento del último paciente	
II	12/2015	Estudio genético	Repositorio de muestras, control de calidad/validación de métodos y reporte provisional de resultados
	01/2015	Estudio de los niveles de TNF α	
	06/2014	Análisis de las células B	
	01/2015	Determinación de los niveles de anti-TNF α y anticuerpos contra el fármaco	
III	12/2015	Depuración de las bases de datos y resolución de queries.	Guía de Práctica Clínica, publicación de resultados
	12/2016	Análisis estadístico y discusión de resultados	

PROYECTO 7. ESTUDIO MULTICÉNTRICO ESPAÑOL SOBRE EXPRESIÓN FENOTÍPICA, FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES ASOCIADOS A LA PROGRESIÓN DE LESIONES PRECURSORAS DEL CÁNCER GÁSTRICO.

Grupos CIBERehd implicados. Hospital Universitario de La Princesa, Hospital de Sabadell, Hospital Clínico (Zaragoza), Hospital Clínic (Barcelona), Hospital de Donostia.

Bases Relacionales: El Cáncer Gástrico (CG) es todavía la segunda causa más frecuente de muerte por cáncer en el mundo, con más de un millón de casos nuevos por año. Entre los países de la Unión Europea, la incidencia más alta de CG se observa en Portugal, países del Este, Italia y España. En España, el CG es el quinto tumor más frecuente en hombres y en

mujeres (el cuarto respecto a la mortalidad), con 8.207 casos nuevos por año. La incidencia más alta en España se observa en la meseta castellana, en la Comunidad de Castilla León, y la más baja en las áreas Mediterráneas.

La evidencia epidemiológica muestra que el CG es el resultado de múltiples factores etiológicos ambientales y genéticos, que se desarrolla a través de un largo proceso con múltiples estadios. Un proceso inflamatorio habitualmente asociado a una infección por *H. pylori* es considerado como la lesión inicial, que puede progresar hacia una gastritis crónica, metaplasia intestinal, displasia, y finalmente cáncer gástrico. Los pacientes que sufren este largo proceso, pueden no tener síntomas o tener síntomas gástricos inespecíficos; por ello, el CG es habitualmente diagnosticado en un estadio muy avanzado, cuando las opciones curativas son muy limitadas. Los tratamientos actuales del CG son muy poco efectivos, y la supervivencia de este tipo de cáncer es muy baja. En España fallecen el 72% de los casos a los 5 años del diagnóstico. Un mejor control de los factores de riesgo y la identificación de pacientes con lesiones precursoras (LP) de alto riesgo de progresión a CG, representaría la estrategia más efectiva para prevenir o diagnosticar precozmente este tumor. La estrategia más apropiada se basaría en la identificación de marcadores (factores clínicos, patológicos y genéticos) asociados a la progresión de las LP del CG en pacientes sometidos a una gastroscopia y realizar sobre estos pacientes un seguimiento más activo. Dada la falta de evidencia científica y conocimiento de estos factores, la necesidad de reevaluación de las LP es controvertida y no hay protocolos clínicos para el seguimiento de éstas, ni criterios uniformemente aceptados para clasificar a los pacientes en bajo o alto riesgo de progresar a un CG.

La infección por *H. pylori* es un reconocido factor de riesgo de las LP del CG. Sin embargo, menos del 1% de los pacientes infectados desarrollarán un CG a lo largo de su vida. Esto podría depender principalmente de la interacción de factores de virulencia de *H. pylori* con factores genéticos y ambientales. Algunos estudios que han evaluado el efecto de variantes genéticas de *H. pylori* asociadas a su virulencia, basados en análisis por PCR, han observado que la presencia de cepas positivas para CagA (proteína asociada a la citotoxina codificada por el gen cagA) o VacA (citotoxinavacuolizante) con el genotipo s1m1 del gen vacA, tienen más riesgo de desarrollar LP más graves y un mayor riesgo de progresar a CG. Los factores de susceptibilidad genética involucrados en el proceso de carcinogénesis gástrica incluyen polimorfismos de genes que codifican para proteínas de la mucosa gástrica (esenciales para la protección del epitelio), de genes relacionados con la respuesta inflamatoria, etc. Algunas alteraciones epigenéticas observadas en pacientes con CG han sido propuestas como marcadores útiles en la práctica clínica para identificar grupos de riesgo, detectar tumores en estadios precoces y predecir el comportamiento clínico.

Por tanto, en este proyecto de investigación se pretende:

- 1º) Evaluar y comparar la progresión a CG de LP según el tipo de lesión.
- 2º) Evaluar y comparar la progresión a CG de LP en pacientes infectados por cepas de *H. pylori* que contienen el gen cagA y/o el genotipo s1 y m1 del gen vacA.

3º) Evaluar el efecto en la progresión a CG de LP, respecto a polimorfismos de genes candidatos relacionados con la respuesta inflamatoria, la protección de la mucosa gástrica, la señalización por *H. pylori*, el metabolismo de carcinógenos, el stress oxidativo y la reparación del DNA.

4º) Evaluar el efecto de alteraciones epigenéticas en genes candidatos.

5º) Establecer una escala de riesgo de marcadores moleculares de evolución a CG de pacientes con LP, que permita identificar los pacientes de más alto riesgo.

Fuentes cofinanciadoras: Fondo de Investigación Sanitaria PNI+D+

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	1-6/2011	Revisión anatomía patológica	Listado de 400 pacientes potenciales
II	6-12/2011	Realización de secciones de parafina del archivo	Secciones de parafina
II	1-6/2012	Revisión historias clínicas, identificación de CG y exitus	Casos recuperados
III	1/2012 -6/2013	Endoscopia, extracción sangre y cuestionario	Base de datos cuestionario Banco de sangre Banco de tejidos
IV	1-6/2013	Preparación y optimización de experimentos	Protocolos de Laboratorio
V	6-12/2014	Determinaciones/resultados de los estudios experimentales	Base de Datos Resultados
VI	12/2015	Evaluación y análisis de resultados	Conclusiones
VII	1/2015	Feedback	Manuscritos/publicación

Proyecto 8: REGISTRO EUROPEO SOBRE EL MANEJO DE LA INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori*. (EuropeanRegistryon*H. pylori*management; Hp-EuReg)

Grupos CIBERehd implicados: Grupo coordinador: Hospital Universitario de La Princesa, Hospital de Sabadell, Hospital Clínico de Zaragoza, Hospital Mutua de Terrassa y Hospital de Donostia.

Bases Racionales: *Helicobacter pylori* es responsable de la infección crónica más prevalente en el mundo y, más concretamente, en España, donde la padece aproximadamente el 50% de la población. La infección por *H. pylori* causa gastritis crónica en el 100% de los infectados y es la causa principal de patologías más graves como la gastritis atrófica, la úlcera péptica y el cáncer gástrico, por lo que desde el punto de vista sanitario es un patógeno de alto impacto, responsable de una notable morbilidad y mortalidad. El alto coste sanitario y social que supone esta infección, así como la gran diversidad de regímenes y líneas de tratamiento, y la variación de eficacia de éstas (debido en parte al aumento de resistencias antibióticas y a diferencias regionales), requeriría una labor continua de análisis crítico de la práctica clínica. Todo esto redundaría en una asistencia optimizada y eficiente, que podría ahorrar gran cantidad de recursos, reduciendo el número de tratamientos necesarios para la erradicación de *H. pylori*, el número de pruebas diagnósticas (en especial de endoscopias, de elevado coste) y la aparición de un notable número de patologías asociadas, como úlceras pépticas, hemorragias digestivas y, probablemente, cánceres gástricos. En ese sentido, la evaluación a través de registros de la práctica clínica ayudaría a mejorar el diseño y organización de los consensos nacionales y europeos sobre el manejo de la infección por *H. pylori*, que en ésta como en cualquier otra patología es la mejor manera de mejorar la eficiencia sanitaria.

OBJETIVOS

Primario: Obtener una base de datos donde se registre de forma sistemática durante un año una muestra amplia y representativa de la práctica clínica habitual de los gastroenterólogos en Europa relacionada con la infección por *H. pylori*.

Secundarios:

- 1) Realizar estudios de implementación de los consensos y guías clínicas sobre la infección por *H. pylori* en los diferentes países.
- 2) Realizar estudios de acceso a tecnologías sanitarias empleadas en las consultas relativas a *H. pylori*.
- 3) Permitir el desarrollo de análisis parciales y específicos por parte de los investigadores, previa aprobación del Comité Científico del Registro.

Se ha seleccionado un listado de países europeos que tengan al menos 10 publicaciones (PubMed) de investigación clínica sobre *H. pylori* (total 31 países). En cada país se ha

seleccionado un Coordinador Local basándose en su actividad clínica e investigadora. La dirección internacional y el comité científico están liderados por el Grupo del Hospital Universitario de La Princesa. Personal del CIBERehd dirige la coordinación, la monitorización, el desarrollo y el análisis del proyecto.

Contexto Internacional: Los participación de 31 países (Alemania, Austria, Bélgica, Bielorrusia, Bulgaria, Croacia, Dinamarca, Eslovenia, España, Estonia, Finlandia, Francia, Grecia, Holanda, Hungría, Irlanda, Italia, Letonia, Lituania, Noruega, Polonia, Portugal, Reino Unido, República Checa, Rumania, Rusia, Serbia, Suecia, Suiza, Turquía y Ucrania) permitirá contextualizar la práctica clínica de cada uno de esos países, permitiendo comparar la toma de decisiones, las estrategias de manejo, los tratamientos, y la eficacia y seguridad en las diferentes regiones.

Fuentes cofinanciadoras: Este proyecto está financiado por el *EuropeanHelicobacterStudy Group*.

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	01/2013	Permiso Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) y AEMPS	Protocolo y Aprobación
II	05/2013	Comienzo del Registro de Practica Clínica	Formulario Electrónico Recogida de Datos
II	05/2013-12/2013	Comienzo del Registro en los diferentes países y análisis intermedio	Abstract a Congresos AEG y DDW
III	07/2014-02/2015	Fin primer año de reclutamiento y seguimiento. Cierre de monitorización primer año.	Publicación
IV	02/2017	Fin del registro. Cierre de monitorización. Análisis de resultados. Valoración de continuidad	Publicación

Proyecto 9: MANEJO ÓPTIMO DE LA INFECCIÓN POR *H. PYLORI* EN ATENCIÓN PRIMARIA ('Optimal*H. pylori*management in PrimaryCare, OptiCare)

Grupos CIBERehd implicados: Coordinador: Hospital Universitario de La Princesa. Hospital de Sabadell.

Bases Racionales: *Helicobacter pylori* es el agente infeccioso más frecuente, afectando a más del 50% de la población mundial y es la causa más frecuente de gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico. El manejo de *H. pylori* se realiza generalmente en las consultas de Atención Primaria. Debido a la pérdida de eficacia de los tratamientos antibióticos es necesaria una actualización continua de los profesionales. Una correcta implementación de las guías y consensos clínicos actualizados permitiría un manejo eficiente de esta infección tan prevalente y relevante.

Objetivo principal

Mejorar el nivel de conocimiento científico-técnico de los profesionales de Atención Primaria sobre la infección por *H. pylori*, sus consecuencias y su tratamiento mediante un método formativo “en cascada”.

Objetivos secundarios

1. Mejorar los resultados en salud (calidad de vida percibida) de los pacientes infectados por *H. pylori*
2. Evaluar la utilización eficiente de los recursos sanitarios disponibles (consumo de fármacos antisecretores, etc.) comparando su uso pre y post proceso formativo.
3. Mejorar los indicadores sanitarios derivados de una correcta orientación diagnóstica-terapéutica de la infección por *H. pylori* (reducción de complicaciones hemorrágicas, ingresos hospitalarios, número de endoscopias, etc.)
4. Realizar un análisis de coste-efectividad de los procesos formativos en el manejo de la infección por *H. pylori*

El proyecto constará de tres fases:

- 1) *Evaluación de la Evidencia actual.* Se realizará por profesionales expertos de las diferentes especialidades médicas (Médicos de Familia, Gastroenterólogos, Salud Pública), quienes actualizarán las evidencias científicas y consensos (Maastricht IV) disponibles para su adaptación a material didáctico para Atención Primaria. Los materiales definitivos fueron revisados de forma independiente por el comité de expertos y posteriormente consensuados en un reunión general (internacional) celebrada el 9 de Noviembre de 2013 en Madrid.
- 2) *Formación e Implantación en Atención Primaria.* Presencial: Mediante una técnica de Educación en Cascada, se formará a tutores de Atención Primaria con el material docente elaborado, que actuarán a su vez como formadores en sus respectivos Equipos de Atención Primaria. Online: La plataforma *e-Learning* será de acceso abierto a todos los Médicos de Familia españoles que lo soliciten. Se procederá a su acreditación por la Comisión de Formación Continuada en España y la EACCME europea. La plataforma será interactiva y constará de temario, casos clínicos, sección de preguntas habituales, foro y acceso de consulta a expertos.

3) *Evaluación del impacto educativo.* Antes y después de realizar el proceso formativo del proyecto, se monitorizará el nivel de conocimientos mediante la realización de encuestas. Así mismo, se evaluarán mediante un análisis de coste-efectividad diversos indicadores de calidad asistencial (por ej. tratamientos prescritos, indicaciones de diagnóstico y tratamiento, métodos diagnósticos utilizados, etc.). A los participantes en cada proceso formativo se les realizará una encuesta para evaluar sus conocimientos antes y después del proceso (taller presencial, *e-learning* o ambos). Se comparará la mejora en conocimientos entre ambos procesos. Se evaluará el impacto del proyecto sobre el sistema nacional de salud a través de análisis del uso de las tecnologías sanitarias y medicamentos prescritos en los ámbitos de acción del proceso formativo, realizándose análisis de coste-efectividad. Se compararán pre y post proceso formativo, realizándose subanálisis en función del tipo de estrategia formativa realizada (talleres vs. *E-learning*), región geográfica y otros factores sociodemográficos.

Contexto Internacional: El proyecto, dirigido por el Grupo del Hospital de La Princesa, está promovido por el *EuropeanHelicobacterStudy Group*, la *EuropeanSocietyforPrimaryCareGastroenterology* y la *UnitedEropeanGastroenterology*. Participan 9 países (Alemania, España, Francia, Grecia, Holanda, Irlanda, Italia, Reino Unido y Suecia) de forma activa (aunque los beneficiarios del *E-learning* podrán ser de cualquier otro país del entorno europeo).

Fuentes cofinanciadoras: Este proyecto está financiado por la *UnitedEuropeanGastroenterology* a través de la convocatoria abierta competitiva "Long-termEducationalGrant" 2012.

FASES DEL PROYECTO, HITOS Y ENTREGABLES

Fase	Fecha	Hito	Entregable
I	06/2013-10/2013	Adaptación y actualización de evidencia. Preparación de materiales didácticos.	Versión 1 materiales didácticos
II	11/2013	Reunión general del proyecto/Faculty Meeting	Versión definitiva materiales didácticos
II	02/2014	Establecimiento de plataforma online y Comienzo encuestas	Formulario encuestas y análisis de resultados
III	02/2014-03/2014	Comienzo del proceso educativo presencial en cascada	Materiales del curso presencial.
IV	03/2014	Comienzo curso E-Learning	Curso online de acceso gratuito en la página de la UEG

V	04/2015	Fin cursos presenciales y E-Learning	Calificaciones, encuesta de satisfacción, adquisición de conocimientos. Compromisos de Cambio
VI	05/2016	Encuesta post programa formativo	Formulario online y resultados de encuesta
VII	12/2017	Análisis final de la acción educativa	Publicaciones

4. Tareas propias de los grupos

A continuación se detallan las tareas concretas en las que participan cada uno de los grupos, consignándose en el apartado “Centros” en primer lugar al grupo de lidera el proyecto

4.1. Patología esófago-gastro-duodenal

TAREAS	CENTROS
1.1 Identificación de factores ambientales y genéticos de riesgo de lesiones y complicaciones de la mucosa gastro-intestinal orientadas al desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento.	6,2,3,4,9,11
1.2 Estudio de las alteraciones epigenéticas (hipermetilación de islas CpG e hipometilación global) en Esófago de Barrett orientado a su aplicación en la clínica como biomarcadores de progresión neoplásica	6,2,7,9,11
1.3 Susceptibilidad genética e infección por <i>Helicobacter pylori</i> . Influencia en el desarrollo y pronóstico del cáncer gástrico.	6,2,9,11
1.4 Fomento de la práctica clínica eficiente en pacientes con ERGE basada en la evidencia científica y el conocimiento de factores implicados en la gravedad de la enfermedad.	11,2,9
1.5 Análisis de marcadores de hipoxia y de funcionalismo mitocondrial en procesos gastrointestinales con componente inflamatorio	3,11,2,6,9
1.6 Detección de <i>H. pylori</i> mediante RT-PCR e inmunohistoquímica en el paciente con linfoma MALT gástrico <i>H. pylori</i> negativo por métodos convencionales.	2,9,11,6
1.7 Estudio de los factores determinantes de la aparición y evolución de las lesiones gastroduodenales	9,2,11,6,4,1
1.8 Evaluación de nuevos métodos diagnósticos de la infección por <i>H. pylori</i> y las lesiones gástricas asociadas	9,6,2,11
1.9 Evaluación de nuevas terapias para la erradicación de la infección por	9,2,11,6

<i>H. pylori.</i>		
1.10	Evaluación de nuevos tratamientos de rescate en la erradicación de la infección por <i>H. pylori</i>	9,2,11,6
1.11	Elaboración y difusión del I Consenso Español sobre hemorragia digestiva por úlcera péptica	2,6,9
1.12	Estudio del RNA no codificante (nc-RNA) en la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	2, 9
1.13	Elaboración y difusión del III Consenso Español sobre el manejo de la infección por <i>H. pylori</i>	9, 2, 6, 7, 12
1.14	European Registry on <i>Helicobacter pylori</i> management	9, 2
1.15	Estudio clínico para evaluar el efecto de un complemento alimenticio en el alivio de síntomas de antibioterapia en pacientes tratados para la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	9, 2, 4
1.16	Optimal <i>Helicobacter pylori</i> management in primary care	9, 2
1.17	Comparative, prospective, study comparing the accuracy of two different stool antigen tests (Premier Platinum HpSA and novel ImmunoCard STAT!) for the diagnosis of <i>Helicobacter pylori</i> infection	9, 2, 11, 12
1.18	Colaboraciones Cochrane en revisiones sistemáticas y meta-análisis de tratamientos de erradicación de <i>H. pylori</i>	9, 2

4.2. Enfermedad Inflamatoria Intestinal

TAREAS	CENTROS	
2.1	Caracterización de microbiota en la enfermedad inflamatoria intestinal	1, 5, 11
2.2	Estudio de nuevas aproximaciones terapéuticas en la enfermedad inflamatoria intestinal mediante actuación sobre la microbiota intestinal: probióticos, prebióticos y antibióticos.	4, 5, 8
2.3	Estudios a nivel nacional sobre aspectos epidemiológicos de la enfermedad inflamatoria intestinal	2, 4, 6, 9, 11
2.4	Caracterización de las bases fisiopatológicas y clínicas de la enfermedad inflamatoria intestinal y de sus complicaciones	2, 4, 6, 9, 11
2.5	Infección en la enfermedad inflamatoria intestinal	2, 4, 5, 6, 7, 9, 11
2.6	Estudios genéticos en la enfermedad de Crohn relacionados con el estrés oxidativo. Aproximación para la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas.	2, 7, 9, 11, 12
2.7	Prevalencia poblacional de discapacidad y discapacidad laboral en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal: grupos	2, 5, 6,
2.8	Aspectos sociolaborales de las EII	2, 5, 6,
2.9	Implicación de los factores angiogénicos y linfangiogénicos en la enfermedad inflamatoria intestinal	2, 4, 9
2.10	Valor del test rápido de calprotectina fecal en la predicción de la recidiva de la enfermedad inflamatoria intestinal	9, 2, 4,
2.11	Definición de Estándares de Calidad para las Unidades de Enfermedad Inflamatoria Intestinal	2, 6, 7
2.12	Terapia celular en la enfermedad inflamatoria intestinal	7

2.13	Eficacia y seguridad de los tratamientos biológicos en la enfermedad inflamatoria intestinal	9, 2, 4,6, 7, 11
2.14	Eficacia y seguridad de los tratamientos inmunomoduladores en la enfermedad inflamatoria intestinal	9, 2, 4,6, 7, 11
2.15	Descubrimiento de genes de susceptibilidad para toxicidad asociada a la azatioprina basada en un estudio de asociación con barrido amplio del genoma (GWAS)	9, 2, 4,6, 7, 11
2.16	Cribado del cáncer colorrectal	2, 6, 7, 9, 11
2.17	Evaluación de implementación de guías clínicas y calidad asistencial en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal	9,7
2.18	Registro de colitis microscópica nacional (proyecto RECOMINA): estudio de factores ambientales de riesgo de colitis microscópica y creación de un banco de ADN	2, 4, 7, 9, 11
2.19	Elaboración y validación de un índice objetivo de discapacidad en la enfermedad de Crohn.	2, 4, 5
2.20	Reducción del cuestionario de percepción de discapacidad en la Enfermedad de Crohn (CPDC).	2, 4, 5
2.21	Mecanismos de inflamación intestinal y su modulación por péptidos y microrna.	8
2.22	Mecanismo de acción de los flavonoides como agentes antiinflamatorios intestinales.	8
2.23	Papel de los transportadores de nucleósidos en la respuesta de macrófagos a pancreatitis aguda	3
2.24	BiobancoIMIDs diferencial (Identificación diferencial de biomarcadores y nuevas terapias, subprograma INNPACTO)	9, 2, 4,6, 7, 11
2.25	Eficacia de dos vacunas frente al virus de la hepatitis B en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y su impacto en el sistema inmune	9, 2, 4,7, 12
2.26	Predicción de la respuesta a corto y largo plazo al tratamiento con fármacos anti-TNF α	9, 2, 7, 11
2.27	Mecanismos de refractariedad a fármacos en la enfermedad inflamatoria intestinal	4, 7, 12
2.28	Calprotectina y proteína C reactiva como marcadores de una nueva estrategia diagnóstica-terapéutica que evalúa la actividad mucosa para personalizar el tratamiento y mejorar el pronóstico de los pacientes con enfermedad de Crohn tratados con inmunosupresores.	9, 4, 2, 11
2.29	Proyecto asociado a ENEIDA: Mortalidad en pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales (MORTIS)	9, 4, 7, 11, 12
2.30	Proyecto asociado a ENEIDA: Prevalencia de cáncer en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en tratamiento con fármacos inmunomoduladores y biológicos (CAIN)	9, 4,7, 11, 12
2.31	Adalimumab en la prevención de la recurrencia post quirúrgica en la enfermedad de Crohn	11, 2,4, 7, 9, 12
2.32	Evaluación de implementación de guías clínicas y calidad asistencial en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal	9,6
2.33	Historia natural de la enfermedad celíaca	12
2.34	En este sentido, se están desarrollando estudios de biología de sistemas que integran genómica, microbioma y transcriptoma, para conocer las bases fisiopatológicas de la recurrencia postquirúrgica en	5, 4

la enfermedad de Crohn.

4. 3. Neurogastroenterología

TAREAS		CENTROS
3.1	Manejo de los pacientes con alteraciones funcionales digestivas	1
3.2	Estudio de la fisiopatología de los síntomas y complicaciones asociados a la disfagia orofaríngea y esofágica con aplicación específica a la validación de nuevos métodos diagnósticos, y estandarización de la práctica clínica.	1, 10, 11
3.3	Desarrollo de métodos de estudio in Vitro de las alteraciones de la motilidad gastrointestinal humana en segmentos orofaríngeos, esófago-gástricos, intestinales y colo-rectales humanos.	1, 10, 11

Política de Recursos Humanos y Plan de Formación

La **política de recursos humanos** del CIBEREHD está dirigida a apoyar la labor de los grupos de investigación que lo componen a través de incorporar personal investigador y de apoyo, fomentar la cooperación entre investigación básica y clínica para favorecer la transferencia a aplicaciones prácticas, así como la cohesión entre los grupos con el fin de cumplir los objetivos generales del CIBEREHD y los específicos de los programas en que está integrado cada grupo. La forma de conseguirlo pasa por la captación de talento, la formación continuada de sus componentes a través del plan de formación, y el apoyo con personal específico a estructuras transversales comunes (plataformas tecnológicas, bioinformática, biobanco, web).

La captación de talento es especialmente importante cuando se trata de incorporar nuevo personal investigador a los grupos del CIBEREHD. A este efecto, favorecemos en primer lugar -incentivándola económicamente- la contratación de personal altamente cualificado (jóvenes doctores), seguido de la de investigadores pre-doctorales y técnicos cualificados, adecuando su perfil a las necesidades del grupo para cumplir los objetivos del CIBEREHD. Asimismo, desde la creación del CIBEREHD instituímos la figura de investigador contratado senior, que está previsto poder dotar económicamente a lo largo del presente cuatrienio una vez se haya implementado la carrera profesional del personal investigador contratado por el CIBEREHD. Esta vía de incorporación de investigadores es limitada y está condicionada por el presupuesto del CIBEREHD.

La carrera profesional del personal investigador recientemente aprobada es un instrumento de vital importancia para captar talento para los CIBER. Esta incorpora 4 grados; el primero es el investigador postdoctoral contratado (doctores recientes); el segundo es el doctor acreditado (investigadores con una trayectoria postdoctoral relevante que superen una evaluación externa equivalente a la de un investigador del Programa Miguel Servet o Santiago Ramón y Cajal); el tercero es el investigador consolidado (status que se adquiere tras superar una nueva evaluación externa a los 5 años de ser doctor acreditado), y finalmente el grado más alto corresponde a investigadores de alto nivel, equivalentes a un Profesor Titular/Catedrático de Universidad o a un Profesor de Investigación del CSIC. El disponer de esta carrera investigadora permite de una parte estimular al personal más joven para seguir progresando y manteniendo una labor de primer nivel, y de otra poder ser competitivos con otras instituciones a la hora de captar y/o mantener investigadores de talento reconocido. Otra forma de incorporación de talento es la adscripción a los grupos de investigadores clínicos y básicos de las instituciones que forman parte del consorcio. A este efecto hemos arbitrado políticas de incentivo, como son las ayudas a investigadores menores de 45 años que tengan proyectos competitivos a nivel nacional o internacional en activo.

Dentro de la política de recursos humanos, el plan de formación de los investigadores está estructurado en varios niveles. En el propio grupo, la dirección del CIBEREHD supervisa y fomenta la realización periódica de sesiones científicas y seminarios, así como la realización de tesis doctorales por parte de los investigadores predoctorales. Asimismo, tiene establecido el programa de profesor visitante de manera que un investigador principal de un grupo efectúe una estancia de unos días en otros grupos para intercambiar conocimientos y facilitar los trabajos colaborativos. A nivel individual, el CIBEREHD tiene establecidos programas de estancias cortas de un investigador, tanto en otros grupos del CIBEREHD como en otros centros, así como de asistencia a cursos para el aprendizaje de nuevas técnicas y el aumento de sus conocimientos. La formación y colaboración entre los grupos de un programa, se facilita

mediante las reuniones específicas de programa y de las reuniones de los grupos que participan en las acciones estratégicas del CIBEREHD. A nivel general del CIBEREHD existen otras acciones formativas: las Jornadas Científicas Anuales, las Jornadas de presentación de plataformas, y la organización por el CIBEREHD, en colaboración con las Sociedades Científicas de nuestra área temática, de Cursos de Postgrado, Jornadas Formativas y Simposios específicos. Todas estas actividades están detalladas en el Plan de Formación.

Plan de Formación

Una de las misiones fundamentales del CIBEREHD es aumentar los conocimientos de sus componentes a todos los niveles (técnicos, diplomados de enfermería, licenciados predoctorales e investigadores doctores) con la finalidad de favorecer tanto la investigación de excelencia, como el intercambio de conocimientos entre los miembros de los diferentes grupos del CIBEREHD. Para ello dentro del Plan de Acción plurianual se ha diseñado un Plan de Formación, siendo el responsable del mismo el Coordinador de Docencia. Este Plan de Formación, una vez aprobado por el Consejo Rector, se va desarrollando según las disponibilidades presupuestarias, acordando el Comité de Dirección en sus reuniones la priorización de las distintas acciones y programas, de acuerdo con las propuestas del Director Científico, del Coordinador de Docencia y de las disponibilidades presupuestarias. Como se detalla a continuación algunas de las acciones van dirigidas a aumentar los conocimientos individuales de un investigador y favorecer de esta manera la productividad de su grupo, mientras que otras acciones están dirigidas, además, a favorecer la cohesión del CIBEREHD mediante el intercambio de investigadores entre los grupos o el desarrollo de acciones conjuntas. En líneas generales el Plan de Acción para 2015 contempla las mismas acciones y programas que el Plan anterior.

Las acciones y programas del Plan de Formación son los siguientes:

1. Programa de movilidad

1.1. Objetivos

Los objetivos de las acciones de movilidad son favorecer el conocimiento de los investigadores mediante el aprendizaje de nuevas técnicas, el intercambio de conocimiento entre los grupos del CIBEREHD y el fomento de proyectos colaborativos. Para ello existen varias acciones, dirigidas tanto a investigadores jóvenes como seniors.

1.2. Acciones

1.2.1. Estancias formativas en centros del CIBEREHD.

Son estancias de corta duración, de una a seis semanas, dirigidas tanto a postgraduados predoctorales como a doctores, cuya finalidad es el aprendizaje de una técnica concreta, la

realización de experimentos complementarios a los que está realizando en su centro y el inicio o continuación de un proyecto conjunto.

1.2.2. Programa de profesor visitante intra/extramural, por el que un investigador senior actúa como profesor visitante en un grupo del CIBEREHD, con objeto de fomentar la interacción personal y la colaboración científica de investigadores de distintos centros. Duración aconsejada: una semana.

1.2.3. Estancias formativas de corta duración. Duración: de 6-8 semanas. Es un tipo de estancias para las que existe pocas vías de financiación y que puede ser muy útil para aprender una nueva técnica o completar un trabajo experimental. A desarrollar preferentemente por investigadores jóvenes y en el extranjero. Excepcionalmente, según disponibilidad presupuestaria, pueden ser de hasta 3 meses.

1.3. Procedimiento para la solicitud

1.3.1. El investigador interesado debe remitir al coordinador de docencia un formulario de solicitud (anexo 1), que está disponible en la página web en la que consta sus datos de filiación, los datos del centro donde va a efectuar su estancia, los objetivos concretos de la misma, la fecha prevista y el presupuesto de gastos. Esta solicitud debe ir acompañada de una carta de aceptación del jefe de grupo donde va a efectuar la estancia.

1.3.2. La solicitud será examinada primero por el coordinador de docencia y posteriormente por una comisión formada por el director científico, el gerente y el propio coordinador de docencia, que en el plazo de dos semanas emitirá una resolución en función al interés científico de la solicitud y a las disponibilidades presupuestarias (anexo 2) que será comunicada al interesado y a su jefe de grupo.

1.3.3. Antes de efectuar la resolución el coordinador de docencia puede recabar información adicional al interesado, al jefe de grupo o al coordinador del programa correspondiente.

1.3.4. Los gastos debidamente justificados le serán reembolsados al investigador una vez finalizada la estancia, ajustándose a la cuantía de la ayuda concedida.

1.3.5. El investigador deberá remitir al coordinador de docencia en el plazo de un mes una breve memoria explicativa de la actividad desarrollada durante su estancia.

2. Programa de perfeccionamiento.

2.1. Objetivo

El programa de perfeccionamiento comprende una serie de acciones encaminadas a facilitar el desarrollo de la carrera investigadora y a mejorar la formación de los investigadores mediante la adquisición de nuevos conocimientos.

2.2. Acciones

2.2.1. Ayuda a los investigadores jóvenes.

Se trata de una acción estratégica destinada a favorecer el desarrollo de una línea de investigación propia a investigadores jóvenes, mediante la concesión de una financiación

adicional de 25.000 € anuales, durante dos años, para la contratación de un técnico o la adquisición de material de laboratorio.

Esta acción, iniciada en 2007, ha tenido muy buenos resultados, beneficiándose de la misma 44 investigadores.

Los requisitos para la solicitud de esta ayuda son ser doctor contratado o adscrito al CIBEREHD, tener menos de 45 años y ser investigador principal de un proyecto competitivo nacional en activo. Las solicitudes deben dirigirse al director científico.

El número de ayudas (máximo 10 por año) se decide de acuerdo al presupuesto y la selección de los beneficiarios de la ayuda se efectúa por parte del comité de dirección, a propuesta del coordinador de docencia y del director científico. Debido a restricciones presupuestarias esta ayuda se interrumpió en el año 2013 y en el año 2015 tampoco se efectuará convocatoria del programa de ayuda a investigadores jóvenes.

2.2.2. Ayuda para la asistencia a Cursos, tanto básicos como clínicos, así como a Jornadas y Conferencias Monotemáticas, sobre una enfermedad determinada o un aspecto concreto de la especialidad y relacionado con una de las líneas de investigación prioritaria del CIBEREHD.

La financiación de esta acción cubre los gastos de inscripción, desplazamiento y estancia del investigador. El procedimiento para solicitar la ayuda es el mismo que el detallado para las acciones de movilidad.

Están excluidos de esta acción, la inscripción y los gastos de asistencia a congresos, tanto nacionales como internacionales, incluso en los casos en los que el investigador tenga alguna comunicación aceptada.

3. Programa de promoción de actividades formativas.

3.1. Ayuda para llevar a cabo actividades formativas organizadas por miembros del CIBEREHD.

La ayuda consiste en patrocinar, co-organizar o co-financiar cursos de postgrado, jornadas científicas, simposios o reuniones para la presentación de nuevas técnicas o métodos diagnósticos cuyos organizadores pertenezcan a grupos del CIBEREHD.

El investigador responsable de la organización enviará una carta de solicitud al director científico y al coordinador de docencia con los detalles de la actividad y el tipo de ayuda solicitada, adjuntando también un programa preliminar. Para la concesión de la ayuda se tendrá en cuenta la temática de la actividad, la participación en el profesorado de miembros de diferentes grupos del CIBEREHD, la audiencia a la que va dirigida y las disponibilidades presupuestarias. Se priorizan actividades organizadas por varios grupos y de ámbito internacional. En ningún caso el CIBEREHD cubrirá todos los gastos del evento, sino que puede cofinanciar parte de las actividades estrictamente científicas. El patrocinio del CIBEREHD debe quedar reflejado convenientemente en el programa y demás medios de difusión de la actividad. Desde el año 2014 el patrocinio del CIBEREHD también se extiende a los Másters dirigidos por investigadores del CIBEREHD.

3.2. Jornadas de presentación de plataformas biotecnológicas del CIBEREHD. El objetivo de esta acción es poner en contacto a los investigadores del CIBEREHD con los responsables de las plataformas, para que conozcan las posibilidades de las mismas y fomentar su utilización.

3.2.1. Plataformas tecnológicas. Se organiza una jornada anual en colaboración con el CICbioGUNE. En esta Jornada de un día de duración se presentan las diferentes plataformas tecnológicas y se efectúa una visita a las mismas. La jornada está limitada a un máximo de 15 investigadores. Los gastos de desplazamiento son financiados a cargo del presupuesto de docencia. Las solicitudes deben dirigirse al coordinador de docencia, el cual efectúa la selección de los asistentes. En los dos últimos años no se ha realizado esta jornada, pero se prevé organizar una nueva jornada para el año 2015.

3.2.2. Otras plataformas (biobanco, bioinformática...). La presentación de estas plataformas y su utilización por parte de los grupos, se efectúa en el curso de las reuniones generales de investigadores, existiendo la posibilidad de organizar una jornada específica sobre las mismas, cuya organización sería similar a la de la jornada de las plataformas tecnológicas.

3.3. Apoyo a las actividades formativas organizadas por los grupos.

Desde la coordinación de docencia se fomentarán y supervisarán las actividades docentes de los grupos (seminarios, conferencias, cursos de doctorado...), efectuándose también un registro de las mismas. Existe la posibilidad de financiar, a petición del jefe de grupo, un seminario o conferencia a cargo de un profesor invitado.

4. Programas formativos en colaboración con Sociedades Científicas.

Este programa consiste en establecer convenios de colaboración entre el CIBEREHD y las Sociedades Científicas de la especialidad, de manera que el CIBEREHD participe como co-organizador, de cursos de postgrado, cursos de formación de residentes y otras actividades formativas auspiciadas por estas sociedades.

Se han establecido convenios con la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH), la Asociación Española de Gastroenterología (AEG) y la Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD), pudiendo ampliarse en un futuro a otras sociedades afines. En el año 2015 se prevé continuar con el convenio de colaboración establecido por las mencionadas sociedades científicas.

5. Acciones formativas virtuales.

El objetivo de estas acciones es fomentar la comunicación y la colaboración entre los grupos a través de la página web. Comprenden dos tipos de acciones:

5.1. Elaboración de un catálogo de las técnicas que los diferentes grupos pueden ofrecer a los demás y ponerlas a disposición de todos los miembros del CIBEREHD.

5.2. Incorporación a la página web de las presentaciones más relevantes efectuadas en las diferentes actividades formativas presenciales.

En el año 2015, una vez que ya está completamente operativa la web del CIBER se prevé dinamizar estas actividades formativas virtuales.

Tabla 1. PLAN DE FORMACION DEL CIBEREHD

1. *Programa de movilidad*
 - Estancias formativas en centros del CIBEREHD
 - Programa de profesor visitante intra/extramural
 - Estancias formativas de corta duración

2. *Programa de perfeccionamiento*
 - Ayuda a investigadores jóvenes
 - Ayuda para asistencia a cursos, jornadas y conferencias monotemáticas

3. *Programa de promoción de actividades formativas*
 - Ayuda para actividades formativas organizadas por miembros del CIBEREHD
 - Jornadas de presentación de plataformas biotecnológicas
 - Apoyo a las actividades formativas organizadas por los grupos

4. *Programas en colaboración con Sociedades Científicas*
 - Convenios de colaboración con la AEEH, AEG y SEPD para co-organizar actividades formativas.

5. *Acciones formativas virtuales*
 - Elaboración de un catálogo de técnicas
 - Incorporación de presentaciones relevantes a la página web