



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana
ISSN: 0325-2957
actabioq@fbpba.org.ar
Federación Bioquímica de la Provincia de
Buenos Aires
Argentina

Caula, Cinthya; Pieri, Elsa; Cooke, Paula; Carle, Natalia; Elbarcha, Osvaldo; Ré, Viviana; Orsilles, Miguel

Autoanticuerpos tisulares y factor reumatoideo en la infección crónica por virus de la hepatitis C

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 42, núm. 1, enero-marzo, 2008, pp. 11-16

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires

Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53542103>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Autoanticuerpos tisulares y factor reumatoideo en la infección crónica por virus de la hepatitis C*

Tissue autoantibodies and rheumatoid factor in the chronic hepatitis C virus infection

► Cinthya Caula¹, Elsa Pieri², Paula Cooke¹, Natalia Carle³, Osvaldo Elbarcha¹, Viviana Ré⁴, Miguel Orsilles⁵

1. Bioquímicos.
2. Bioquímica. Especialista en Hematología.
3. Bioquímica. Especialista en Inmunología.
4. Dra. en Ciencias de la Salud.
5. Dr. en Ciencias Químicas.

* Cátedra de Inmunología Clínica e Inmunológica. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, Camino a Alta Gracia Km 7 1/2, (5017), Córdoba, Argentina.

Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de autoanticuerpos tisulares y de factor reumatoideo (FR) en la infección crónica por Virus de la Hepatitis C (VHC) y su relación con el genotipo viral y tratamiento antiviral. Este estudio incluyó a 21 pacientes infectados con VHC y 24 sujetos sanos. Los autoanticuerpos: antinucleares (ANA), anti-músculo liso (ASMA), anti-mitocondriales (AMA) y anti-microsomales de hígado y riñón-1 (LKM-1) fueron investigados por inmunofluorescencia indirecta y el FR por aglutinación de látex. ANA fueron detectados en el 43% de pacientes y en el 4% de controles ($p < 0,05$). ASMA, AMA y LKM-1 no se detectaron en pacientes ni en controles. El FR estuvo presente en el 48% de los pacientes, pero en ninguno de los controles. En pacientes ANA (+) y/o FR (+), el nivel de la enzima alanina-aminotransferasa fue similar al nivel detectado en pacientes ANA y FR negativos. Además, la presencia de ANA o FR no estuvo asociada con el genotipo viral o tratamiento antiviral. En conclusión, una alta prevalencia de ANA y FR a títulos bajos pueden ser detectados en la infección crónica por VHC. Estas manifestaciones autoinmunes no están relacionadas con signos bioquímicos de daño hepático, ni genotipo viral o tratamiento antiviral.

Palabras clave: virus de la hepatitis C * autoanticuerpos * anticuerpos antinucleares * factor reumatoideo * genotipo viral

Summary

The aim of this study was to determine the prevalence of tissue autoantibodies and rheumatoid factor (RF) in patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection and their relationship with viral genotype and antiviral treatment. This study included 21 patients infected with HCV and 24 healthy subjects. Anti-nuclear (ANA), anti-smooth muscle (SMA), anti-mitochondrial (AMA) and anti-liver-kidney microsomal-1 (LKM-1) autoantibodies were investigated by indirect immunofluorescence technique, and

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

RF by latex agglutination. ANA were found in 43% of the patients with HCV infection and 4% of the controls ($p < 0.05$). SMA, AMA and LKM-1 were absent from both groups (patients and controls). RF was detected in 48% of the patients but none of the controls. The level of serum alanine aminotransferase enzyme was similar in all the patients' positive or negative results for ANA and/ or RF. Furthermore, the presence of ANA or RF was not associated with viral genotype or antiviral treatment. In conclusion, a high prevalence of ANA and RF at low titre can be detected in patients with HCV chronic infection. These autoimmune manifestations are not related with biochemical findings of hepatic injury, nor with genotype or antiviral treatment.

Key words: hepatitis C virus * autoantibodies * anti-nuclear antibodies * rheumatoid factor * viral genotype

Introducción

La infección con el virus de la hepatitis C (VHC) está asociada con numerosas alteraciones inmunológicas, tales como: presencia de complejos inmunes circulantes, producción de autoanticuerpos y manifestaciones autoinmunes que incluyen: lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoidea, tiroiditis autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, síndrome anti-fosfolípidos, entre otras (1).

Numerosos autoanticuerpos, tanto órgano como no-órgano específicos, pueden ser detectados en pacientes con infección aguda o crónica por VHC. Los anticuerpos anti-cardiolipina, anti-tiroideos, anti-nucleares (ANA), anti-músculo liso (ASMA), anti-mitochondriales (AMA) y anti-microsomales de hígado y riñón 1 (LKM-1) han sido determinados tanto en adultos como en niños y adolescentes. Sin embargo, la prevalencia informada previamente para estos autoanticuerpos manifiesta una marcada variación. En adultos, la prevalencia de autoanticuerpos en pacientes con infección crónica por VHC varía entre 18% y 66% y los anticuerpos más comúnmente detectados han sido ASMA, seguido por ANA y LKM-1 (2-7). Otra manifestación inmunológica extrahepática la constituye la presencia de factor reumatoideo (FR) en un elevado porcentaje de los pacientes (8-10).

El mecanismo por el cual el VHC gatilla una respuesta autoinmune no está totalmente determinado, pero parecen intervenir tanto factores del huésped como del virus. Una respuesta autoinmune podría ser desencadenada en un individuo genéticamente susceptible (11) o ser consecuencia de un mimetismo molecular entre epitopes del virus y ciertos antígenos intracelulares liberados durante la injuria hepatocelular lo que desencadenaría una respuesta inmune con producción de autoanticuerpos (12). Por otro lado, los estudios que han evaluado la relación entre genotipo del VHC y manifestaciones autoinmunes han arrojado resultados controvertidos, mientras que el tratamiento antiviral parece inducir la aparición o exacerbación de manifestaciones autoinmunes y el desarrollo de numerosos autoanticuerpos (13) (14).

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de autoanticuerpos tisulares y de FR en pacientes adultos con infección crónica por VHC con o sin tratamiento antiviral y establecer si el patrón de autoanticuerpos está asociado con el genotipo viral.

Materiales y Métodos

PACIENTES Y CONTROLES

En este estudio prospectivo y transversal se incluyeron 21 pacientes con infección crónica por VHC (9 mujeres y 12 varones; edad media: 40,1 años, rango: 20-69 años). Siete pacientes estaban siendo tratados con interferón-alfa ($\text{INF-}\alpha$) al momento de obtener la muestra de sangre. Como grupo control se incluyeron 24 sujetos sanos con edades similares a las de los pacientes.

AUTOANTICUERPOS Y FR

En el suero de pacientes y controles fue investigada la presencia de ANA, ASMA, AMA, LKM-1 y FR. Los ANA se detectaron por inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando como sustrato secciones de hígado de rata (Inmunofluor, ANAs, Biocientífica, Buenos Aires, Argentina). Los patrones de tinción se caracterizaron en células HEP-2 (Bion, Buenos Aires, Argentina). Los ASMA, AMA y LKM-1 se detectaron por IFI utilizando como sustrato secciones de hígado, estómago y riñón de rata (Inmunofluor, triple tejido, Biocientífica, Buenos Aires, Argentina). Un título $\geq 1/40$ fue considerado positivo para todos los autoanticuerpos evaluados (15). Las muestras positivas se titularon en diluciones seriadas al doble, hasta la máxima dilución positiva y se observaron al microscopio en forma independiente por tres de los autores.

El FR se detectó por técnica de aglutinación de látex (Artritest, Wiener Lab., Rosario, Argentina). Las muestras reactivas se titularon en diluciones seriadas al doble, hasta la máxima dilución positiva.

CONCENTRACIÓN DE ALANIN-AMINOTRANSFERASA (ALT)

La concentración sérica de ALT fue determinada por método UV optimizado (Wiener Lab., Rosario, Argentina).

PRUEBAS VIROLÓGICAS

La evidencia serológica de infección con VHC fue determinada por la detección de anticuerpos contra el VHC (anti VHC) utilizando una técnica de inmunoensayo (Wiener Lab., Rosario, Argentina). El genotipo del VHC fue determinado mediante técnica de restricción enzimática y análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción y la clasificación de los genotipos fue realizada de acuerdo con Simmonds *et al.* (16). Ninguno de los pacientes tuvo evidencia serológica de co-infección con virus de la hepatitis B o virus de la inmunodeficiencia humana.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los resultados fueron expresados como media \pm ES. Las comparaciones de parámetros categóricos fueron realizadas utilizando la prueba χ^2 o la prueba exacta de Fischer, según corresponda. Las comparaciones entre parámetros cuantitativos fueron realizadas utilizando pruebas paramétricas o no paramétricas según corresponda. Una probabilidad $< 0,05$ fue considerada estadísticamente significativa.

Resultados

Los ANA fueron detectados en el 43% (9/21) de los pacientes y en el 4% (1/24) de los sujetos sanos ($p < 0,05$). En pacientes, el rango de títulos fue de 1/40 a 1/640, mientras que el control sano ANA (+) presentó un título de 1/40. Títulos bajos de ANA ($\leq 1/160$) estuvieron presentes en el 78% (7/9) de los pacientes, mientras que en el 22% (2/9) se detectaron títulos $\geq 1/320$ ($p < 0,05$) (Tabla I). Tanto en pacientes como en el sujeto sano ANA (+), el patrón de tinción observado en el núcleo de las células en interfase fue moteado fino y no se evidenció coloración de la región cromosómica condensada en las células en metafase. En

2/9 pacientes (22%) se observó una coloración moteada fina citoplasmática. En pacientes y controles no se detectaron AMA, ASMA y LKM-1.

El FR fue detectado en el 48% (10/21) de los pacientes pero en ninguno de los controles sanos. El rango de títulos de los FR fue de 1/40 a 1/320. El 62% (13/21) de los pacientes fue ANA o FR (+), mientras que en el 28% (6/21) de los casos coexistieron ANA y FR. La presencia de ANA y/o FR no estuvo asociada con el sexo o edad de los pacientes ($p = 0,15$).

En los pacientes con infección por VHC, el nivel de la enzima ALT fue significativamente mayor que en controles (121 ± 12 UI/L vs 22 ± 3 UI/L, $p < 0,05$). Sin embargo, cuando se agruparon a los pacientes según presencia o no de ANA y FR, en pacientes ANA (+) y/o FR (+) el nivel de ALT (110 ± 3 UI/L) no evidenció variación significativa respecto al nivel de detectado en pacientes ANA y FR negativos (127 ± 7 UI/L).

Los genotipos más prevalentes fueron el 1b y 2c, distribuidos en similares porcentajes (42,8% y 47,6%, respectivamente). Otros genotipos identificados fueron: el 3a en un paciente y el 4 en otro. No hubo asociación entre presencia de ANA o FR y el genotipo del VHC. Por último, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre la prevalencia de ANA y/o FR en pacientes tratados con IFN- α y los no tratados (Tabla II).

Discusión y Conclusiones

En la infección por VHC, la producción de ANA y FR podría ser consecuencia tanto de factores del huésped como de factores virales. El sistema HLA parece tener un papel predominante en la patogénesis de manifestaciones autoinmunes. Sebastiani *et al.* (17) establecieron una asociación entre los alelos HLA-DR5 y HLA-DQ2 con presencia ANA. Por otro lado, la liberación de antígenos intracelulares durante la injuria hepatoceleular podría gatillar una respuesta inmune con producción de autoanticuerpos. A este respecto, Gregorio *et al.* (12) identificaron tres antígenos nucleares con una elevada homología con poliproteínas del VHC. Este hallazgo sugiere que la producción de ANA podría ser consecuencia de un mimetismo molecular entre antígenos del VHC y antígenos nucleares. En cuanto a la presencia de FR, se ha determinado una

Tabla I. Prevalencia de ANA en pacientes con infección crónica por VHC y controles sanos, según los diferentes títulos.

Grupo	ANA positivo					Total
	1/40	1/80	1/160	1/320	$\geq 1/640$	
VHC (n=21)	3 (14)	1 (5)	3 (14)	1 (5)	1 (5)	9 (43)
Controles (n=24)	1 (4)	0	0	0	0	1 (4)

Tabla II. Prevalencia de ANA y FR en pacientes con infección crónica por VHC tratados y no tratados con INF- α .

	Con INF- α (n=7)	Sin INF- α (n=14)
ANA (+), n (%)	2 (28) *	1 (7)
FR (+), n (%)	1 (14) *	3 (21)
ANA y FR (+), n (%)	1 (14) *	5 (36)
* p=NS		

asociación entre el alelo HLA-DR6 y producción de FR (17) y un efecto protector del HLA-DR2 sobre la generación de FR (11). Por otro lado, el FR constituiría un producto de los linfocitos B clonales e infectados con el virus.

En el presente trabajo, los ANA fueron detectados en el 43% de los pacientes con infección crónica por VHC y a títulos bajos ($\leq 1/160$) en el 78 % de los casos, mientras que en el 22% de ellos se detectaron títulos $\geq 1/320$. Este hallazgo es similar a lo informado por Cacoub *et al.* (18) quienes determinaron una prevalencia de ANA de 41% con títulos $\leq 1/80$ en el 71% de los casos y títulos $\geq 1/80$ en el 29% de los casos. También, este hallazgo es similar a lo informado por Buskila *et al.* (19) quienes establecieron una prevalencia de ANA del 38%. Sin embargo, otros estudios han informado una prevalencia menor de ANA y que oscila entre 2,8% y 23% (2) (4) (20) (21) o una prevalencia mayor que oscila entre 54% y 63% (8) (22).

Tomando en consideración que cinco pacientes presentaron título de ANA $\geq 1/160$, un título considerado significativo para el diagnóstico de colagenosis, tales pacientes, aunque clínicamente asintomáticos, deberían ser evaluados periódicamente a fin de detectar cualquier signo de desarrollo de una enfermedad autoinmune. Con respecto al patrón de tinción nuclear, en todos los casos fue moteado fino similar a lo observado en otros estudios (2) (20) (23). Esta característica indicaría una especificidad antigénica diferente al patrón homogéneo que se observa en la hepatitis autoinmune.

En el grupo de pacientes incluidos en este estudio no se detectó la presencia de ASMA a diferencia de la prevalencia informada en otros estudios y que oscila entre 3,7% y 89% (4) (6) (8) (21). Respecto a AMA y LKM-1 estos resultados coinciden con estudios previos (6) (8) (22). Sin embargo, otros autores han informado prevalencias de AMA que oscilan entre 2% y 8% (5) (21) (23) y de LKM-1 que oscilan entre 1,3% y 10% (2) (4) (8) (23). Por otro lado, el FR estuvo presente en el 48% de los pacientes, hallazgo similar a lo informado previamente (3) (10) (12).

La amplia variabilidad en las prevalencias de los autoanticuerpos podría ser consecuencia de aspectos metodológicos (título de corte considerado, sustrato, etc) y aspectos relacionados con la población analizada (distribución geográfica y factores genéticos). En este estudio, se utilizó una dilución de 1/40 para determinar la presencia de autoanticuerpos debido a que el uso de títulos mayores puede disminuir la sensibilidad diagnóstica de las pruebas. Estudios previos han utilizado una dilución 1/40 (2) (4) (6) (23) pero otros han utilizado diluciones menores o mayores (8) (25) lo que influye al momento de establecer prevalencias. Por otro lado, las diferencias informadas pueden ser consecuencia del estadio clínico de la infección. El patrón y título de autoanticuerpos podría variar según el estadio de la infección: pacientes con hepatitis C crónica, pacientes con manifestaciones autoinmunes o individuos infectados con VHC libre de síntomas. Por último, la diferencia en las prevalencias podría ser consecuencia del número de pacientes evaluados en los distintos trabajos, incluido el número reducido de pacientes de este estudio.

Los niveles de la enzima ALT estuvieron elevados en los pacientes con infección por VHC. Sin embargo, no hubo asociación de positividad de ANA y/o FR con niveles de ALT; este hallazgo es similar a lo informado por Muratori *et al.* (23) y Cassani *et al.* (4) pero difiere de otros estudios (2) (4). Otro aspecto evaluado en este estudio fue la relación entre manifestaciones autoinmunes y genotipo viral. Los hallazgos de este trabajo confirman la falta de asociación entre marcadores de autoinmunidad y genotipo viral (2) (6) (23). Por último, confirman que el tratamiento con monoterapia (INF- α) no influye en la producción de autoanticuerpos (3) (4).

En conclusión, en este trabajo se ha detectado una alta prevalencia de ANA (43%) y FR (48%) a títulos bajos en la infección crónica por VHC. Estas manifestaciones autoinmunes no estuvieron relacionadas con signos bioquímicos de daño hepático, ni genotipo viral o tratamiento antiviral.

CORRESPONDENCIA

DRA. CAULA CINTHYA
 Cátedra de Inmunología Clínica e Inmunología
 Facultad de Ciencias Químicas
 Universidad Católica de Córdoba
 Camino a Alta Gracia Km 7
 (5017) CÓRDOBA, Argentina.
 TE: 0351-4938060, FAX: 0351-4938061
 E-mail: cqpos@uccor.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. Agnello V, De Rosa F. Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues. *J Hepatol* 2004; 40: 341-52.
2. Lenzi M, Bellentani S, Saccoccio G, Muratori P, Masutti F, Muratori L, *et al.* Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: a nested case-control study of the Dionysos cohort. *Gut* 1999; 45: 435-41.
3. Clifford BD, Donahue D, Smith L, Cable E, Luttig B, Manns M, *et al.* High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; 21: 613-9.
4. Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Muratori P, Giostra F, Francesconi R, *et al.* Serum antibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. *Hepatology* 1997; 26: 561-6.
5. Wasmuth HE, Stolte C, Geier A, Dietrich CG, Gartung C, Lorenzen J, *et al.* The presence of non-organ-specific autoantibodies is associated with a negative response to combination therapy with interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 4.
6. Muratori P, Muratori L, Stroffolini T, Pappas G, Terlizzi P, Ferrari R, *et al.* Prevalence of non-organ-specific autoantibodies in HCV-infected subject in the general population. *Clin Exp Immunol* 2003; 131: 118-21.
7. Alnaqdy A, Alfahdi A, Alkobaisi M, Kaminski GZ. Prevalence of autoantibodies in patients with hepatitis C virus infection in Oman. *Ann Saudi Med* 2003; 23: 127-31.
8. Pawlotsky JM, Roudot-Thoraval F, Simmonds P, Mellor J, Ben Yahia MB, Andre C, *et al.* Extrahepatic immunologic manifestations in chronic hepatitis C and hepatitis C virus serotypes. *Ann Intern Med* 1995; 122: 169-73.
9. Pawlotsky JM, Ben Yahia M, Andre C, Voisin MC, Inrator L, Roudot-Thoraval F, *et al.* Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 1994; 19: 841-8.
10. Tarantino G, Riccio A, Spano A, Loi G, Padula S, Ladogana, *et al.* HCV infection and chronic arthritis: does viral replication matter? *Hepatology Res* 2006; 35: 238-41.
11. Hu C-Y, Wu C-S, Lee C-S, Wu C-H, Tsai H-F, Chen P-J, *et al.* HLA-DR11 and HLA-DR2 are negatively associated with autoantibody production in chronic hepatitis C. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 138-9.
12. Gregorio GV, Choudhuri K, Ma Y, Pensati P, Dorio R, Grant P, *et al.* Mimicry between the hepatitis C virus polyprotein and antigenic target of nuclear and smooth muscle antibodies in chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 404-13.
13. Gatselis N, Georgiadou S, Tassopoulos N, Zachou K, Liaskos C, Hatzakis A, *et al.* Impact of parietal cell autoantibodies and non-organ-specific autoantibodies on the treatment outcome of patients with hepatitis C virus infection: A pilot study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 482-7.
14. Gehring S, Kullmer U, Koepplmann S, Gerner P, Wintermeyer P, Wirth S. Prevalence of autoantibodies and the risk of autoimmune thyroid disease in children with chronic hepatitis C virus infection treated with interferon- α . *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5787-92.
15. Johnson PJ, McFarlane IG (convenors on behalf of the panel). Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993; 18: 998-1005.
16. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Brechot C, *et al.* A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology* 1994; 19: 1321-4.
17. Sebastiani GD, Bellisai F, Caudai C, Rottoli P, Valensin PE, Pippi L, *et al.* Association of extrahepatic manifestations with HLA class II alleles and with virus genotype in HCV infected patients. *J Biol Regul Homeost Agents* 2005; 19: 17-22.
18. Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Louri I, Loustaud-Ratti V, *et al.* Extrahepatic manifestations associated with Hepatitis C Virus Infection: A Prospective Multicenter Study of 321 Patients. *Medicine* 2000; 79: 47-56.
19. Buskila D, Shnaider A, Neumann L, Lorber M, Zilberman D, Hilzenrat N, *et al.* Musculoskeletal manifestations and autoantibody profile in 90 hepatitis C virus infected Israeli patients. *Sem Arthr Rheum* 1998; 28: 107-13.
20. Peng YC, Hsieh SC, Yang DY, Tung CF, Hu WH, Huang WN, *et al.* Expression and clinical significance of anti-nuclear antibody in hepatitis C virus infection. *J Clin Gastroenterol* 2001; 33: 402-6.
21. Betterle C, Fabris P, Zanchetta R, Pedini B, Tositti G, Bosi E, *et al.* Autoimmunity against pancreatic islets and other tissues before and after interferon-alpha therapy in patients with hepatitis C virus chronic infection. *Diabetes Care* 2000; 23: 1177-81.
22. Bayraktar Y, Bayraktar M, Gurakar A, Hassanein TI, Van Thiel DH. A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis: the role of interferon in the development of autoimmune diseases. *Hepatogastroenterol* 1997; 44: 417-25.
23. Muratori P, Muratori L, Guido M, Granito A, Susca M, Lenzi M, *et al.* Clinical impact of non-organ-specific autoantibodies on the response to combined antiviral

- treatment in patients with hepatitis C. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 501-7.
24. Ramos-Casals M, Pares A, Jara LJ, Solans R, Vinas O, Vazquez P, *et al.* Antimitochondrial antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: description of 18 cases and review of the literature. *J Viral Hepatol* 2005; 12: 648-54.
25. Zusinaite E, Metslula K, Salupere R. Autoantibodies and hepatitis C virus genotypes in chronic hepatitis C patients in Estonia. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 488-91.

Aceptado para su publicación el 24 de octubre de 2007