

Factores de riesgo cardiovascular

LA SOBREEXPRESIÓN DE PTEC EN RATONES TRANSGÉNICOS NO AFECTA AL TRANSPORTE REVERSO DE COLESTEROL ESPECÍFICO DE MACRÓFAGOS NI A LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LAS HDL

N. Rotllan Vila, L. Calpe Berdiel, S. Suren Castillo, A. Guillaumet, F. Blanco Vaca y J.C. Escolà Gil

Institut de Recerca del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: La proteína transferidora de ésteres de colesterol (PTEC) actúa intercambiando ésteres de colesterol por triglicéridos entre las partículas de HDL y las lipoproteínas que contienen apoB. Se desconoce el impacto de la variación en la actividad PTEC sobre el transporte reverso de colesterol específico de macrófagos (TRC) *in vivo* y la capacidad antioxidante de las HDL. El objetivo principal de este estudio es determinar los efectos de la expresión de PTEC en ratones transgénicos (que de forma natural no expresan PTEC) sobre el TRC específico de macrófagos y la habilidad protectora de la HDL frente la modificación oxidativa de la LDL.

Materiales y métodos: Se inyectaron intraperitonealmente macrófagos P388D1 marcados con ^3H -colesterol en ratones controles y ratones transgénicos de PTEC alimentados con dieta de mantenimiento o rica en grasas y colesterol. El plasma fue recogido a las 24 y 48 horas, momento en el cual los ratones fueron sacrificados y el hígado y las heces recogidos. El colesterol hepático y fecal fue extraído con isopropanol:hexano y la distribución de ^3H -colesterol entre colesterol libre y esterifica-

do determinada mediante cromatografía en capa fina. El grado de protección de la modificación oxidativa de la LDL incubada con HDL fue evaluado midiendo la movilidad electroforetica y con la monitorización de la fluorescencia liberada durante el ensayo con diacetato 2',7'-dclorofluoresceina (DCF).

Resultados: En los ratones transgénicos de PTEC se observó una disminución del ³H-colesterol de HDL a las 24 y 48 horas de la inyección. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la cantidad del ³H-colesterol de hígado y heces cuando se compararon los datos de ratones controles y transgénicos en ambas dietas. Las HDL de los ratones transgénicos de PTEC y controles protegían a la LDL de la modificación oxidativa de manera similar. Conclusiones. La sobreexpresión de PTEC en ratones transgénicos no afecta el TRC específico de macrófagos a heces *in vivo* ni a la capacidad protectora de la HDL frente la modificación oxidativa de la LDL.

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO +2138INS CAGACC EN EL GEN DEL RECEPTOR 3 DE LA MELANOCORTINA CON EL RIESGO DE OBESIDAD Y VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS

J.V. Sorli Guerola², Jv. Sorli², F. Francés², O. Portolés², J.I. González², J. Yuste², D. Godoy¹, F. Giménez² y D. Corella²

¹Hospital general de Valencia. ²Departamento de Medicina Preventiva. Universitat de València.

El receptor 3 de la melanocortina (MC3R) está implicado de la homeostasis energética y regulación del peso corporal. Existen pocos estudios que se hayan centrado en la variabilidad genética en dicho receptor y el riesgo de obesidad, siendo todavía más escasos los que estudien variantes genéticas que no impliquen cambios en un solo nucleótido sino otras variaciones como inserciones o delecciones. Nuestro objetivo ha sido conocer si el polimorfismo +2.138Ins CAGACC (consistente en una inserción de 6 bases) en dicho gen se asocia con el riesgo de obesidad en población adulta española. Se ha realizado un estudio de casos y controles incluyendo 303 obesos y 606 controles apareados por sexo y edad. En el análisis crudo, los portadores de la variante +2.138Ins CAGACC presentaron un menor riesgo de obesidad, en el límite de la significación estadística (OR 0,73, IC95%: 0,53-1,01; P = 0,056), que apenas se modificó al controlar por posibles variables de confusión. Al analizar la asociación entre este polimorfismo y el peso corporal, se encontró una asociación estadísticamente significativa con un menor peso ($77,3 \pm 23,4$ Kg en no portadores frente a $74 \pm 17,3$ Kg en portadores, P = 0,030). Esta asociación fue específica del grupo de obesos, de forma que los portadores de la variante +2.138Ins CAGACC presentaron un menor peso medio que los no portadores ($99,8 \pm 22,7$ vs $94,2 \pm 20,7$ kg); P = 0,04. En conclusión, este polimorfismo se asocia con menor peso, fundamentalmente en obesos.

EL COLESTEROL, NECESARIO PARA LA CITOCINESIS

C.C. Sánchez Martín¹, C. Martín Sánchez¹, A. Dávalos Herrera¹, G. de la Peña Martín¹, B. Ledo Trujillo¹ y M.A. Lasunción Ripa²

¹Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. ²Hospital Ramón y Cajal, y Universidad de Alcalá. Madrid.

Las células de mamíferos requieren colesterol para proliferar. En trabajos anteriores, hemos demostrado que el colesterol es necesario para que se complete el ciclo celular. Así, en las células HL-60, la inhibición de la biosíntesis de colesterol induce

la acumulación de células en G2/M, con contenido genético 4n. En estas células, la prolongación de la deficiencia de colesterol se acompaña de la aparición de células poliploides, lo que indica que las células no han podido consumar la citocinesis. En el presente trabajo hemos estudiado los efectos de la depleción de colesterol por tratamiento con metil- χ -ciclodexrina (MCD), sobre la progresión del ciclo celular. Las células HL-60 se mantuvieron en un medio libre de colesterol (ITS) y después de los diferentes tratamientos, se procesaron para la tinción del ADN con yoduro de propidio y posterior análisis por citometría de flujo. En células asincrónicas, el tratamiento continuado con MCD 2,5 mM produjo la acumulación inicial de células en G2/M y posterior aparición de células poliploides (8n). A dosis tan bajas como 0,05 mM, que de por sí no producían efectos aparentes en la progresión del ciclo celular, en combinación con un inhibidor de la biosíntesis de colesterol (SKF104976 1,5 μ M, que inhibe la lanosterol 14a-desmetilasa), MCD aceleró la parada en G2/M y la aparición de células poliploides. Para determinar más directamente la acción de la depleción de colesterol sobre la finalización de la mitosis, las células se sincronizaron en prometafase con nocodazol y luego se retiró, analizándose la progresión del ciclo celular. En condiciones controles, la mayor parte de las células completaron la mitosis en 30-60 minutos, apareciendo en G1. En presencia de MCD 10 mM, por el contrario, una proporción importante de ellas permanecieron en G2/M. Estos resultados demuestran que la extracción aguda de colesterol impide la división celular. Para visualizar el fenómeno, las células fueron monitorizadas *in vivo* mediante microscopía de contraste de fases. En las preparaciones con MCD, las células avanzan hasta fases finales de la telofase, produciéndose una estrangulación, en la que se llegan a perfilar las dos células hijas; sin embargo, no consiguen completar la citocinesis, por lo que tras varios intentos, la célula desiste y se forma una célula poliploide. Estas observaciones demuestran que el colesterol es necesario para que se produzca la citocinesis.

PAPEL DE LAS VÍAS DE ESTRÉS EN LA PARADA DEL CICLO CELULAR POR EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE COLESTEROL

C. Martín Sánchez, C.C. Sánchez Martín, B. Ledo Trujillo, G. de la Peña Martín, A. Dávalos Herrera y M.A. Lasunción Ripa
Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

La inhibición de la síntesis de colesterol en las células HL-60 produce la parada transitoria del ciclo celular en G2/M. Posteriormente, parte de las células prosiguen hacia poliploidía y entran en apoptosis. Estos efectos se evitan añadiendo colesterol al medio de cultivo, lo que muestra su especificidad. La adición de colesterol a células detenidas en G2/M por el tratamiento previo con algún inhibidor distal de la biosíntesis de colesterol, evita que las células prosigan a poliploidía y permite que culmine la mitosis, apareciendo en G1. Las células HL-60 carecen de p53, por lo que su respuesta al estrés se limita a las vías de p38MAPK y JNK. En el presente trabajo hemos estudiado el papel de esas vías de estrés en la parada del ciclo celular por efecto de la deficiencia de colesterol. Las células HL-60 se incubaron en un medio libre de colesterol (ITS) y se trataron con SKF104976 —un inhibidor de la 14 α -lanosterol desmetilasa— en presencia o ausencia de colesterol, SB203580 (inhibidor de p38MAPK) y SP600125 (inhibidor de JNK). La síntesis de DNA se determinó mediante la incorporación de BrdU y el ciclo celular mediante yoduro de propidio, por citometría de flujo. El tratamiento con SKF104976 produjo un in-

crecimiento transitorio de fosfo-p38MAPK y otro más progresivo de fosfo-JNK, evaluados mediante Western blot, lo que indica la estimulación de estas vías de estrés. En HL-60 tratadas solamente con SB203580, apenas se producen cambios en el ciclo celular, mientras que en células previamente tratadas con SKF104976, se acelera la poliploidía. Por su parte, SP600125 induce poliploidía, y en combinación con SKF104976, se acelera la muerte celular. Para determinar el papel de estas vías de estrés, se estudió también el efecto de estos inhibidores en otras líneas celulares: MCF-7 y MDA-MB231, de cáncer de mama. En este caso, las células se sincronizaron en prometáfase con nocodazol, estudiando a continuación la progresión del ciclo celular desde este punto tras retirar este compuesto y añadir los inhibidores. En MCF-7, que expresan p53, SP600125 impidió la citocinesis pero las células no progresaron a poliploidía, mientras que con SB203580 se completó la mitosis. En MDA-MB231, deficientes de p53, SP600125 indujo poliploidía, que se acentuó al combinarlo con SB203580. Estos resultados sugieren que en respuesta a la deficiencia de colesterol, las células HL-60 activan p38MAPK, impidiéndose la replicación del DNA pero de forma transitoria al carecer de p53, lo que permite la poliploidía al no poderse culminar la mitosis por falta de colesterol. En este sentido, la deficiencia de colesterol emula la inhibición de JNK.

EL DESMESTEROL REGULA LA EXPRESIÓN DE LOS GENES IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DEL COLESTEROL MEDIANTE LAS VÍAS DE SREBP Y LXR

S. Rodríguez-Acebes², J. Martínez-Botás Mateo², M.A. Lasunción Ripa², R.B. Rawson¹ y D. Gómez-Coronado Cáceres²

¹University of Texas Southwestern Medical Center. ²Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

La homeostasis del colesterol es controlada por las proteínas que se unen a los elementos regulados por esteroles (SREBP). Éstas se sintetizan en forma de precursor inactivo que debe ser procesado proteolíticamente para liberar el dominio N-terminal, que es la forma madura que activa la transcripción de los genes diana. El colesterol regula este procesamiento de manera que cuando su contenido aumenta en la célula, disminuye el procesamiento de los SREBP. El objetivo de este trabajo fue determinar si el desmosterol puede regular el procesamiento de los SREBP y la expresión de sus genes diana. Para ello se utilizaron células J774 mantenidas en un medio con un 10% de SBF o en un medio libre de colesterol (células J774-D) y también células L. Ambas líneas celulares son deficientes en la conversión del desmosterol en colesterol. Los experimentos se llevaron a cabo en condiciones de deficiencia de esteroles y se analizaron los efectos de la adición de 25-hidroxcolesterol (control positivo), colesterol o desmosterol (disueltos en etanol o formando complejos con metil-β-ciclodextrina). Observamos que el desmosterol disminuyó la proporción de la forma madura de SREBP-1 y SREBP-2 en las células J774, J774-D y las células L, siendo incluso más eficiente que el colesterol cuando se añadieron disueltos en etanol. Paralelamente, el desmosterol disminuyó la cantidad de mRNA de los genes del receptor de LDL, la HMG-CoA reductasa e Insig-1 al menos de forma tan eficiente como el colesterol. Esto se acompañó de la disminución del contenido de las proteínas del receptor de LDL y la HMG-CoA reductasa. El efecto de los distintos esteroles sobre los niveles de SREBP-1 madura fue compensado por un aumento del precursor, el cual se asoció a un aumento en la cantidad de mRNA de SREBP-1c. Este resultado sugería que el desmosterol estaba activando el factor de transcripción

LXR, necesario para la expresión de SREBP-1c. En consonancia con este hecho, el mRNA de ABCA1, diana de LXR, aumentó en respuesta a dichos esteroles. Así pues, el desmosterol es capaz de regular eficientemente el procesamiento de los SREBP y activar a LXR aún en ausencia de colesterol.

PREVENCIÓN CARDIVASCULAR: ¿OLVIDAMOS TRATAR EL TABAQUISMO?

A. Espinola Rodríguez, C. Barrio Ruiz, C. Tamayo Ojeda, O. Llado Giner, B. Pina Sánchez-Arjona, M. Rendón Villa y G. Lorenz Castaño

Institut Català de la Salut. Centre de Salut Camps Blancs. Sant Boi de Llobregat. Barcelona.

Objetivo: Evaluar los resultados de un programa de tratamiento intensivo del tabaquismo en atención primaria (AP).

Metodología: Estudio descriptivo de una cohorte de pacientes > 15 años de un centro de salud urbano que atiende a una población de 12.000 habitantes. Se incluyeron: pacientes que por cualquier motivo acudieron a las consultas de medicina general y expresaron su deseo de dejar de fumar, motivados (Rirchmon > 5) y en fase contemplativa. Intervención intensiva durante 8 semanas (visitas semanales el primer mes, quincenales el segundo y entrega de material de autoayuda). Variables: edad, sexo, antecedentes patológicos (hipertensión, diabetes, dislipemia, enfermedad cardiovascular), historia de tabaquismo (edad de inicio del hábito, nº cigarrillos/día, nº de intentos para dejar de fumar, dependencia elevada (Fargestrom > 9) y tratamiento para dejar el hábito. Se evaluó la abstinencia a las 8 semanas mediante CO exhalado y a los 6 y 12 meses mediante encuesta telefónica.

Resultados: 236 pacientes. 50% hombres. Edad media 45,7 años (DE: 14,6). Edad de inicio en el hábito 17 años (DE: 6,25). Media de cigarrillos/día 24 (DE: 11), nº intentos previos para dejar de fumar 2 (DE: 2,7). El 18,6% eran hipertensos, 7,6% diabéticos, 13,5% dislipémicos y 4% tenían algún evento. El 22,3% tenían dependencia elevada. Un 63% de mujeres y 48% hombres tenían familiares fumadores ($p = 0,027$). El 8,7% utilizaron chicles de nicotina, 22% parches de nicotina, 54% parches y chicles, 7,3% bupropion y 8% no utilizaron tratamiento farmacológico. La abstinencia a las 8 semanas fue del 59%, a los 6 meses del 33% y a los 12 meses del 9,7%.

Conclusiones: 1) El tratamiento del tabaquismo en atención primaria consigue tasas de abstinencia similares a otros ámbitos y superiores a las conseguidas solo con consejo (6%). 2) Las tasas de abstinencia son independientes de los tratamientos utilizados, de los factores de riesgo asociados y del grado de dependencia. 3) La presencia de familiares de primer grado fumadores es mayor entre las mujeres.

TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR: EL SEXO IMPORTA

J. Botanes Iglesias², S. Medina Alarcón², M. Manich Capdevila², A. Espinola Rodríguez², C. Barrio Ruiz², A.R. Hernández Alonso², N. Parellada Esquius¹, M. Retana Puigmartí², E. de Frutos Echaniz² y G. Lorenz Cataño²

¹SAP Baix Llobregat Litoral. ABS Vinyets. Sant Boi de Llobregat.

²ABS Camps Blancs. Sant Boi de Llobregat.

Objetivo: Conocer el abordaje terapéutico en enfermedad cardiovascular y evaluar diferencias de género en atención primaria.

Material y métodos: Estudio descriptivo transversal realizado de septiembre a diciembre de 2006 en un centro de atención

primaria urbano que atiende 12.000 habitantes. Se incluyeron todos los pacientes de ambos性s con diagnóstico de enfermedad cardiovascular.

Criterios de exclusión: 1) Enfermedades terminales (oncológicos, insuficiencia renal severa, insuficiencia hepática severa). 2) Deterioro cognitivo severo. 3) Pacientes sin diagnóstico confirmado. 4) Pacientes no visitados en el último año. 5) Variables: edad; sexo; enfermedad cardiovascular: accidente vascular cerebral (AVC), accidente isquémico transitorio (AIT), angina, infarto de miocardio (IAM) y arteriopatía periférica (AP); tratamiento actual e intervencionismo realizado.

Resultados: Se incluyeron 391 pacientes con una edad media de 69,82 años, el 76 % son hombres. Los hombres presentan mayor prevalencia de IAM (35,9% vs. 22,4% mujeres, $p = 0,005$) y AP (28,2 % vs. 14,7% mujeres, $p = 0,02$). No se hallan diferencias significativas en AVC, AIT y angina.

En los hombres se prescriben más antiagregantes (86,3%), estatinas (68,1%) y vasodilatadores periféricos (19,8%) que en las mujeres (76,2%; 55,2%; 11,2% respectivamente) con $p < 0,05$. Los anticoagulantes y diuréticos se prescriben más en las mujeres (13,3% vs. 7,3%; 58% vs. 40,7% respectivamente; $p < 0,05$). No se encuentra diferencias en IECA, ARA-2, B-bloqueantes, nitratos, antagonistas del calcio, antidiabéticos orales e insulinoterapia.

En los procedimientos de trombolisis, coronografía, ACTP, bypass y endarderectomía, no se hallan diferencias significativas de género. Pero sí, en la no-realización de intervencionismo (52,4% hombres vs. 68,5% mujeres, $p = 0,002$).

Conclusión: En las mujeres, la prevención secundaria de la enfermedad cardiovascular es más deficitaria prescribiéndose menos antiagregantes y estatinas, y realizándose menos procedimientos intervencionistas.

ESTUDIO DE LOS CAMBIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA ASOCIADOS A LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE COLESTEROL POR SKF104976 EN CÉLULAS HL-60 MEDIANTE MICROARRAYS

L.A. Daimiel Ruiz, D. Gómez-Coronado Cáceres, S. Rodríguez Acebes, M.E. Fernández Suárez, L. Martínez Gimeno, M.A. Lasunción Ripa y J. Martínez-Botás Mateo

Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: El colesterol tiene un papel esencial en la proliferación celular en mamíferos. En las células HL-60, el SKF104976, inhibidor competitivo de la 14 α -desmetilasa, inhibe la síntesis de colesterol y la proliferación celular, deteniendo el ciclo celular en G2/M. El objetivo del presente estudio fue analizar los cambios de expresión génica asociados al bloqueo del ciclo celular producido por el SKF104976 en células HL-60, así como la reversión de dichos cambios tras la adición de colesterol al medio.

Métodos: Células HL-60 cultivadas en ausencia de colesterol se trataron con SKF104976 1,5 μ M durante 60 horas, tras lo cual se añadió colesterol al medio, en forma de LDL o acompañado con metil-ciclodextrina (Col-MCD), y se recogieron muestras a las 4, 6 y 8 horas de la adición. El ciclo celular se analizó mediante citometría de flujo y la expresión génica mediante un microarray dirigido al estudio del metabolismo lipídico y el ciclo celular.

Resultados: El bloqueo del ciclo celular inducido por el SKF104976 se revirtió con la adición tanto de LDL como de

Col-MCD. El análisis de microarray permitió distinguir un *cluster* de genes sobreexpresados por el SKF104976 y cuya expresión se reprimía rápidamente con LDL y Col-MCD, entre los que destacan las principales dianas de SREBP-2 (DHCR24, DHCR7, HMGCR, INSIG1, SC5DL) y SREBP-1 (FASN, SCD, ACAT2). Además, observamos otro *cluster* formado por genes implicados en ciclo celular, como CDC20, CCND2, CCNA2 CDK4, SKP2 y CDKN3 y en el metabolismo y transporte lipídico como FACL3 y FABP5, todos ellos reprimidos por SKF104976. Un tercer grupo lo constituyen genes cuya expresión aumentaba con SKF104976 y presentaban una respuesta tardía a la adición de colesterol, como NPC2, FACL1, ACAS2, LIPIN2 y HSD17B4.

Conclusión: El análisis de expresión génica mediante microarrays permite discernir diversos grupos de genes implicados en el metabolismo lipídico y el ciclo celular con una respuesta diferencial a la deficiencia de colesterol.

LA LDL ELECTRONEGATIVA PRESENTA NUEVAS ACTIVIDADES FOSFOLIPASA C Y ESFINGOMIELINASA ASOCIADAS

C. Bancells Bau, S. Benítez González, J. Ordóñez-Llanos y J.L. Sánchez-Quesada

Servei de Bioquímica. Hospital Santa Creu i Sant Pau. Departament de Bioquímica i Biología Molecular. Universitat Autònoma de Barcelona.

Introducción: La LDL electronegativa (LDL (-)) es una fracción minoritaria de la LDL presente en plasma que se encuentra aumentada en enfermedades de alto riesgo cardiovascular. Comparado con la LDL nativa (LDL (+)), la LDL(-) induce una respuesta inflamatoria incrementada y presenta una mayor actividad enzimática acetil hidrolasa del factor activador plaquetario (PAF-AH). El objetivo planteado en este trabajo fue estudiar la presencia en la LDL (-) de otras actividades fosfolipíticas.

Métodos: La LDL total fue subfraccionada en LDL (+) y LDL (-) mediante cromatografía de intercambio aniónico. Se midieron las actividades lipolíticas sobre fosfolípidos que contienen colina utilizando un método de reacciones enzimáticas con señal fluorescente. Se utilizaron como sustratos esfingomielina (SM), fosfatidilcolina (PC) y lisofosfatidilcolina (LPC).

Resultados: La actividad fosfolipolítica fue casi nula en la LDL (+), en cambio, la LDL(-) presentó actividad lisofosfolipasa C (li-soPLC), esfingomielinasa (SMasa) y fosfolipasa C (PLC). La LDL (-) degradó con diferente eficiencia los distintos sustratos probados: $LPC > SM >> PC$. Para estudiar la habilidad incrementada de la LDL (-) por hidrolizar LPC, se valoró su actividad de degradación de fosfolípidos de LDLs con el contenido modificado en LPC. La LDL (-) degradó eficientemente los fosfolípidos de LDLs enriquecidas en LPC, como LDL oxidada o LDL tratada con PLA₂, pero no las LDLs con un contenido bajo de LPC, como LDL acetilada o LDL nativa. Se descartó que las actividades li-soPLC, SMasa y PLC de la LDL (-) fueran debidas a la PAF-AH, porque esta enzima purificada no hidrolizó LPC, SM o PC. Además, el pefabloc, un inhibidor específico de la PAF-AH, no inhibió las actividades li-soPLC, PLC o SMasa de la LDL (-).

Conclusión: La LDL (-) presenta nuevas actividades fosfolipolíticas: li-soPLC, PLC y SMasa. En conjunto, estas actividades revelan nuevas propiedades de la LDL (-) que pueden jugar un papel significativo en su acción aterogénica.

ANÁLISIS PRELIMINAR DEL POLIMORFISMO COMÚN DE APOAV -1131T/C EN UNA MUESTRA DE POBLACIÓN LABORAL MÁLAGUEÑA DEL ESTUDIO IBERMUTUAMUR

M.J. Ariza Corbo, A. Hornos, J. Rioja, G. Requena, J. Román-García, P. Valdivielso, M. Sánchez-Chaparro y P. González-Santos

Ibermutuamur y Centro de Investigaciones Médico-Sanitarias. Universidad de Málaga. Málaga.

El papel de las variaciones en los niveles plasmáticos de triglicéridos en el desarrollo de la arteriosclerosis está fuera de duda. Los polimorfismos comunes descritos en el gen de la APOA5 modulan las concentraciones plasmáticas de TG, no obstante, se pueden encontrar diferencias según la población de estudio ya que el efecto de los polimorfismos depende de su contexto ambiental y genético en el que se encuentran.

Objetivo: Determinar la frecuencia del polimorfismo -1131T/C del gen APOA5 en una muestra de población laboral malagueña y su relación con las concentraciones de TG y otros lípidos plasmáticos.

Métodos: Se incluyeron 508 trabajadores (385 hombres y 115 mujeres) cuyos datos clínicos se obtuvieron de las exploraciones llevadas a cabo por el equipo médico de vigilancia de la salud de Ibermutuamur. Los análisis bioquímicos se realizaron en el laboratorio central de Murcia. El ADN genómico para los análisis genéticos se extrajo de forma automatizada a partir de sangre congelada. Los genotipos se determinaron empleando sondas TaqMan diseñadas en nuestro laboratorio.

Resultados: La frecuencia del alelo -1131C fue del 6,1%. Los portadores de este alelo presentaron concentraciones más altas de triglicéridos que los no portadores ($128,10 \pm 62,12$ vs. $119,20 \pm 101,60$; $p < 0,05$). La significación se mantuvo al corregir para edad, sexo, IMC, hábito de fumar, ingesta de alcohol, HTA, grupo de actividad económica, concentración de HDL-C y para el genotipo de APOE. La frecuencia del alelo -1131C fue significativamente menor en el primer tercilio de la distribución de TG. No se hallaron asociaciones entre la presencia del alelo y los niveles de colesterol total, LDL o HDL.

Conclusiones: La frecuencia del polimorfismo de APOA5 -1131T/C en nuestra población es similar a la encontrada en otros estudios europeos. Los resultados obtenidos muestran una asociación entre el alelo menos frecuente y los niveles de TG.

POLIMORFISMO DEL GEN CETP (TAQ 1B) Y FACTORES DE RIESGO DE INFARTO DE MIOCARDIO

L. López Ríos⁴, L. López y Juan³, P. Pérez Jiménez⁴, M. Irurita Latasa³, C. Culebras Cáceres¹, E. Martínez Quintana⁴, J. Irurita Latasa³, F. Sánchez García³, J.A. López y Juan², V. Nieto¹ y R. Chirino Godoy⁴

¹Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria.

²SERGAS Las Palmas de Gran Canaria. ³Hospital Universitario Dr Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. ⁴Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

La proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) promueve el intercambio de ésteres de colesterol entre lipoproteínas (HDL y LDL) y lipoproteínas ricas en triglicéridos (VLDL e IDL). Inicia una vía catabólica alternativa, menos eficiente que el transporte inverso de colesterol. El polimorfismo común del gen de la CETP, Taq 1B, consiste en una sustitución A-G (alelos B2-B1) en el primer intrón del gen. El alelo B1 considerado aterogénico, se relaciona con bajos niveles de colesterol HDL y mayor riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM). Analizamos el polimorfismo de la CETP y los factores

de riesgo clásicos en 371 canarios con IAM y 387 controles sanos emparejados por edad y género.

Dislipemia, hipertensión arterial y diabetes resultaron estrechamente relacionados con el IAM y ambos genotipos. El tabaquismo se correlacionaba con el IAM ($p = 0,01$) y los homocigotos B2 ($p = 0,005$). En el análisis de regresión logística destaca el genotipo homocigoto B1 en no fumadores (OR 0,73; IC 95%: 0,44-1,22) tras ajustar por edad, género, diabetes, hipertensión y dislipemia. Nuestros resultados sugieren que el tabaquismo no incrementa el riesgo en los individuos homocigotos B1 e IAM.

CETP	Variable	controles (n = 387)	casos IAM (n = 371)	p
B2B2	normolipemia	125 (50%)	72 (34,8%)	0,001
	dislipemia	125 (50%)	135 (65,2%)	
B1B1	normolipemia	66 (48,2%)	53 (32,3%)	0,004
	dislipemia	71 (51,8%)	111 (67,7%)	
B2B2	normo TA	170 (68,5%)	109 (52,75)	< 0,001
	HTA	78 (31,55%)	98 (47,3%)	
B1B1	normo TA	94 (69,1%)	80 (48,8%)	< 0,001
	HTA	42 (30,95%)	84 (51,2%)	
B2B2	no fumadores	113 (62,8%)	67 (37,2%)	0,005
	fumadores	137 (49,5%)	140 (50,5%)	
B1B1	no fumadores	62 (51,2%)	59 (48,8%)	0,065
	fumadores	65 (41,7%)	105 (58,3%)	
B2B2	normo glucemia	219 (87,6%)	130 (62,8%)	< 0,001
	diabetes	31 (12,4%)	77 (37,2%)	
B1B1	normo glucemia	116 (84,7%)	101 (61,6%)	< 0,001
	diabetes	21 (15,3%)	63 (38,4%)	

UNA ESTRATEGIA DE GENÓMICA INTEGRATIVA BASADA EN HERRAMIENTAS DE BIOLOGÍA COMPUTACIONAL PREDICE SITIOS DE UNIÓN PARA FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN COMPARTIDOS POR UNA RED DE PROTEÍNAS QUE INTERACCIONA CON EL RECEPTOR DE LA INSULINA Y QUE SON COEXPRESADAS EN DIFERENTES EXPERIMENTOS RELACIONADOS CON OBESIDAD/DIETA

J. Ruano Ruiz², J. Marcelo², I. Pérez², G. Thode¹, A. Pérez³, L. Parnell⁴, J. López-Miranda² y J. Ordovás⁴

¹Universidad de Málaga. ²Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ³Instituto Nacional de Bioinformática (Nodo de Integración). ⁴Jean Mayer USDA HNRCA-Tufts University.

Introducción: La Genómica Integrativa es una nueva estrategia desarrollada para clarificar enfermedades complejas en base a datos genotípicos, moleculares y clínicos, en el ámbito de la Biología de Sistemas.

Objetivo: Utilizar la Genómica Integrativa para identificar lugares de unión de factores de transcripción (TFBS) en genes expresados de forma co-regulada bajo diferentes condiciones de dieta/obesidad.

Materiales y métodos: Se obtuvieron valores de expresión de 12.834 genes de 64 muestras en 16 experimentos a través de Gene Expression Omnibus del NCBI usando: [adipocyte OR liver OR pancreas OR muscle OR gut] AND ["Homo sapiens" OR "Mus musculus" OR "Rattus norvegicus"] AND [obesity OR diet OR fat OR "fatty acid" OR "lipoprotein" OR "glucose metabolism"]. Se realizó una transformación \log_2 de las ratios de valores de expresión génica (experimento:control) y un clustering jerárquico con SOMtree de GEPAS v3.1. Cytoscape 2.3.2

mostró mapas de interacciones proteína-proteína (PPI) sobre las que *Multi-genome Analysis of Positions and Patterns of Elements of Regulation (MAPPER)* identificó TFBS compartidos por los genes de las redes PPI más informativas. *IHOP* network permitió, en base a referencias bibliográficas, la extracción automática de nuevas interacciones y de asociación de otras proteínas con nuestra red PPI.

Resultados: El cluster 25 (114 proteínas) contenía la red más informativa con cinco interactantes del receptor de la insulina (PTPN6, PRKCD, PTPRC, SYK, VAV1), que compartían TFBS en el 100% (LUN-1) y el 85% (Irf-2, HFH-1, HFH-2, HNF-3beta, HMG-TY, SQUA). *IHOP* reveló que HFH-1, HFH-2 y HNF-3beta se relacionaban con el desarrollo pancreático, el metabolismo de la insulina y la diabetes tipo MODY.

Conclusión: Esta nueva estrategia, cuando se aplica a los datos de nutrigenómica permite predecir nuevos TFBS de genes co-regulados poniendo de relieve posibles objetivos para grandes estudios futuros epidemiológicos de genotipado.

ESTUDIO DE CARACTERIZACIÓN Y PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DERIVADAS DE TEJIDO ADIPOSO EN UN MODELO PORCINO

J. Lasso de La Vega, G. Vilahur, M. Otero Viñas y L. Badimón
Centro de Investigación Cardiovascular. Barcelona.

Introducción: Las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo (CMMTA) son potencialmente de interés en la recuperación del corazón infartado debido a su capacidad proliferativa, fácil obtención y potencial angiogénico. Sin embargo persisten varias cuestiones en torno a las CMMTA que deben dilucidarse a fin de convertirlas en terapia eficaz y habitual. El objetivo de nuestro estudio se centra en caracterizar la evolución y diferenciación espontánea de CMMTA porcinas.

Material y métodos: A partir de grasa subcutánea porcina (n = 4) se obtuvieron las CMMTA mediante digestión con collagenasa y posterior centrifugación. La fracción celular se sembró en medio DMEM 10% FCS y se prosiguió a: 1) mediante RT-PCR caracterizar, los días 1, 4, 7, 10 y 14, la expresión de marcadores propios de células madre endoteliales (CD144), embrionarias (Oct-4), hematopoyéticas (CD45 y CD34), y troncales *per se* (c-kit y sca-1); 2) estudiar el patrón de proliferación, por el contejo celular y la incorporación de ³H-timidina, desde el día 4 al día 10.

Resultados: A partir del día 7 disminuyó la expresión de CD144, CD45, y ckit mientras que Sca-1 y CD34 mantuvieron unos niveles elevados y estables durante todos los tiempos. No se detectó expresión de Oct-4. (tabla 1) En cuanto al índice de proliferación, éste fue máximo entre los días 5 y 8.

Conclusión: La máxima proliferación de las células asociada a la persistencia de marcadores de pluripotencialidad sugieren que extender mediante cultivo las CMMTA durante 4-7 días previa implantación en el corazón infartado podría aumentar su eficacia terapéutica.

Tabla 1	DIA 1	DIA 4	DIA 7	DIA 10	DIA 14
CD144	+++	+++	++	+	+/-
CD45	++	++	+	+	+/-
CD34	++	+++	+++	+++	++
ckit	+/-	+++	++	+	+
Sca-1	+++	+++	+++	+++	+++
10-04	-	-	-	-	-
	DIA 0-3	DIA 4-6	DIA 7-8	DIA 9-10	
³ H-Timidina	N/A	+++	++	+++	
N células	N/A	+++	++	++	

MÉTODOS DE BIOLOGÍA COMPUTACIONAL PARA ASIGNAR FUNCIÓN BIOLÓGICA PREDICEN UNA NUEVA ACTIVIDAD LIPASA A UNA PROTEÍNA QUE SE CORRELACIONA, MEDIANTE SNP, CON EL FENOTIPO TAMAÑO DE LA PARTÍCULA LDL EN LA POBLACIÓN DEL FRAMINGHAM HEART STUDY OFFSPRING COHORT

J. Ruano-Ruiz⁵, C. Marín⁵, J. Marcelo⁵, J.A. Moreno³, A. Pérez¹, G. Thode², L. Parnell⁴, F. Pérez-Jimenez⁵ y J. Ordovás⁴

¹Instituto Nacional de Bioinformática (Nodo de Integración).

²Universidad de Málaga. ³Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

⁴Nutrition and Genomics Laboratory. Tufts University. Boston.

⁵Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: El fenotipo "tamaño de la partícula LDL" es un predictor de eventos clínicos y de progresión de enfermedad coronaria. Aún se desconoce mucho sobre el modo en que variables genéticas y metabólicas interaccionan para determinar dicho fenotipo. La aplicación de nuevos procedimientos de análisis genómico para la búsqueda a gran escala de marcadores genéticos está aportando gran cantidad de información que es necesario procesar con ayuda de complejos modelos estadísticos y herramientas de Biología Computacional.

Objetivo: Aplicar una estrategia de trabajo que asigne función biológica a proteínas cuyas secuencias génicas contienen algún marcador asociado al fenotipo "tamaño de la LDL".

Materiales y métodos: Se utilizaron datos del genotipado de 116.000 SNPs/persona con GeneChip® Human Mapping 100K de Affymetrix aplicado a 1.320 participantes del estudio Framingham Heart Study Offspring Cohort. El análisis de asociación realizado con la aplicación FBATS ofreció 965 SNPs con correlación estadísticamente significativa. De ellos, 44 SNPs eran intragénicos en 32 genes diferentes cuyas proteínas no tenían anotada ninguna función. Con BLAST se realizó una comparación de cada secuencia frente a la base de datos completa de UniProt. Basada en las homologías encontradas en *Pongo pygmaeus*, *Bos Taurus*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Gallus gallus*, *Xenopus tropicalis*, *Caenorhabditis elegans*, se realizó una comparación múltiple con ClustalW. Utilizando Pfam, AnaGram y datos GO de las fichas UniProt, se realizaron predicciones de función, proceso y localización subcelular.

Resultados: La proteína FLJ21820, cuyo gen se encuentra en la banda p24.1 del cromosoma 2, presenta el SNP rs6724513 que se correlaciona con un *P-value* de 0,006949 con el fenotipo buscado. Se hallaron secuencias homólogas en todas las especies comparadas, compartiendo todas un dominio con función lipasa altamente conservado en su región central, con posible implicación en el metabolismo de los ácidos grasos.

DETERMINANTES DEL CONTROL DE LOS FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

C. Fluixá Carrascosa², J. Navarro Pérez¹, A. Maiques Galán³, C. Brotons⁴, N. Soriano Palacios⁴ y I. Moral Peláez⁴

¹CS Salvador Pau. ²CS VALENCIA-BENIMACLET. ³CS Manises.

⁴EAP Sardenya.

Objetivo: Identificar los determinantes relacionados con el control de los factores de riesgo (FR) en pacientes ya diagnosticados de enfermedad cardiovascular (EC) en la atención primaria (AP).

Métodos: Estudio descriptivo en el marco de un ensayo clínico aleatorizado que valora la eficacia de un programa integral de prevención secundaria en el control de los FR, la calidad de

vida y la morbilidad en pacientes con EC en AP (Estudio PRESeAP, FIS PI031421).

Pacientes: Pacientes diagnosticados de cardiopatía isquémica (CI), ictus o enfermedad arterial periférica (EAP) entre enero de 2004 y mayo de 2005 identificados en 42 centros de salud del territorio español.

Resultados: Participaron 1.223 pacientes, 70% hombres. La edad media (DE) fue de 66,4 (11,2) años. El 51% mostró una PA mayor o igual a 140/90 mmHg (130/80 mmHg en diabéticos) y el 60% un LDL mayor o igual a 100 mg/dl. El 20% de los pacientes mostraron ambas cifras controladas. El 84% recibía tratamiento antihipertensivo, y el 67% hipolipemiantes. La regresión logística mostró como determinantes de mal control de la PA ser soltero/viudo/divorciado, la hipertensión, la obesidad, la diabetes, no recibir tratamiento hipolipemiantes y no estar diagnosticado de CI ni insuficiencia cardíaca; para el LDL los determinantes fueron no estar diagnosticado de CI, la dislipemia y no tomar hipolipemiantes ni antihipertensivos.

Conclusiones: Los pacientes diagnosticados de CI mostraron un mejor control de la PA y del LDL que los pacientes con AVC o EAP. Los determinantes de control de la PA difieren de los del LDL, resultado a considerar al aplicar las recomendaciones para alcanzar los objetivos terapéuticos.

LA MENOR EXACTITUD DE LA ESCALA EUROSORE PARA PREDECIR LAS COMPLICACIONES POSQUIRÚRGICAS EN PACIENTES SOMETIDOS A REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA EN ESPAÑA PUEDE ATRIBUIRSE AL CONSUMO DE TABACO

T. Tejerina Sánchez¹, A. Gordillo Moscoso¹, E. Ruiz Olivar¹, F. Reguillo³, E. Rodríguez³, S. Redondo¹, M. Torrejón³, C. Cárdenas³ y P. Mandeville²

¹Universidad Complutense. Madrid. ²Universidad Autónoma de San Luis Potosí. ³Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: Desde su creación, la escala EuroSCORE, que calcula el riesgo cardiovascular de desarrollar complicaciones posquirúrgicas se ha aceptado como una escala de riesgo. Así, ha sido validado en Europa, sin embargo en España se ha descrito una menor exactitud en su capacidad predictiva.

Objetivo: En este estudio se pretendió revalidar el valor pronóstico de la escala EuroSCORE en las complicaciones posquirúrgicas de revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea en un grupo de pacientes pertenecientes al Hospital Clínico San Carlos de Madrid.

Pacientes y métodos: Se hizo un seguimiento de una cohorte de pacientes con revascularización miocárdica para estudiar la incidencia de complicaciones cardíacas renales o pulmonares y también la muerte como consecuencia de estas complicaciones, en los 30 primeros días después de la cirugía. El mejor modelo de regresión para la predicción se obtuvo usando un procedimiento de selección escalonada.

Resultados: Hubo un total de 30 complicaciones en los 116 pacientes post-CAGB. La regresión logística identificó la puntuación de la escala EuroSCORE (B: 0,38, p: < 0,001, OR: 1,5, 95% IC: 1,2-1,8), un infarto de miocardio reciente (< 30 días) (B: 1,30, p: 0,049, OR: 3,6, 95% IC: 1,0-13,6) y fumador actual (B: 0,42, p: 0,03, OR: 1,5, 95% IC: 1,0-2,2) como las más importantes variables predictoras del desarrollo de complicaciones.

Conclusión: La escala EuroSCORE es un buen predictor del desarrollo de complicaciones en el grupo. Sin embargo, nuestro estudio sugiere añadir como factor de riesgo el consumo de tabaco, para potenciar la capacidad predictiva de la escala en España.

FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA IN MOROCCO

A. Adlouni¹, M. El Messal², K. Ait Chihab³, R. Chater³, A. Kettani³, C. Boileau⁵ y L. Masana⁴

¹Laboratoire de Recherche sur les Lopoprot élines et l'Arthérosclérose. Faculté des Sciences Ben Msik. ²Faculté des Sciences Aïn Chock, Casablanca. ³Faculté des Sciences Ben Msik. ⁴URL, Facultad de Medicina. Reus. ⁵ISERM U33, Hopital Enfants Malades Necker.

Familial hypercholesterolemia (FH), an autosomal dominant disorder characterized by high levels of LDL-C and high risk of premature cardiovascular disease (CVD) as a result of mutations in the receptor LDL (RLDL) gene. Because of their extreme risk for mortality and morbidity, diagnosis, recruitment and management of FH patients must be one of the priorities of public health.

The objective of our study was to determine the FH state of the art in Morocco through a sample of 66 individuals. For this purpose, twelve unrelated FH probands (5 htz and 7 hmz) and 54 close relatives (first and second degree) have been recruited from 1995 to 2004. The screening operation was done by exploration of lipid extravascular deposits, ECG, cardiac scan, lipids (TC, TG, HDL-C and LDL-C) and molecular analysis. The results obtained are interesting that from 54 relatives recruited, 33 heterozygous (htz) and 5 homozygous (hmz) have been identified. 5 hmz have abnormal ECG and cardiac scan. 1 hmz and 1 htz have presented CVD. Amongst those new identified FH, only 18% of htz are conveniently treated and any of the hmz is treated.

Conclusion: In Morocco, the management of FH is very insufficient. The difficult access to treatment due to the high cost of statin therapy and the lack of LDL-apheresis are the main factors responsible for this inadequate management. On the other hand, specialized consultation for dyslipidemia and strategy for management of this cardiovascular major risk factor don't exist, putting FH identification and management difficult in our country.