

Viernes, 27 de mayo de 2011

**E-2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA ESPAÑOLA DE MORTALIDAD Y DIETA (DRECE). PATRONES GEOESPACIALES MEDIANTE TÉCNICAS BAYESIANAS**

A. Gómez de la Cámara, E. Andrés, P. Cancelas, D. Lora, M.A. Rubio, J.A. Gómez-Gerique y J.A. Gutiérrez-Fuentes

*Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.*

**Objetivos:** Determinar las agrupaciones geoespaciales del patrón alimentario en España según frecuencia y tipo de ingesta. Establecer correlaciones entre los patrones dietéticos, la mortalidad cardiovascular y otros factores de riesgo en la población española, y en cada una de los estratos geoespaciales considerados.

**Métodos:** Para el análisis geográfico se utiliza una extensión del modelo jerárquico bayesiano (HBM) propuesto por Besag et al, en el cual la sobredispersión de la distribución Poisson se modela en las ecuaciones como términos de componente espacial y no espacial. Primero, consideraremos este modelo donde utilizaremos como variable dependiente el riesgo relativo (RR). El RR en este modelo está dividido en tres componentes espaciales, el primer componente sería común a ambos, el segundo y tercer componente serían específicos para cada uno de ellos. En este modelo, se representa el patrón especial compartido y el patrón espacial diferencial entre la tasa de ECV y la ingesta de diversos alimentos. Para resolver la ecuación se utilizará la simulación "Markov Chain Monte Carlo" (MCMC) que nos proporciona una estimación de la distribución a posterior de los parámetros del modelo.

**Resultados y conclusiones:** Tras un seguimiento de 15 años de la mortalidad de la cohorte DRECE la tasa de mortalidad en el periodo 1991-2006 fue de 2,09 por 1.000 habitantes. Para estos grupos de edades comprendidas entre 5 a 60 años durante estos quince años de seguimiento el cáncer es la principal causa de muerte. Aun así, hay que destacar que el infarto de miocardio es la segunda causa específica de muerte. Para la mortalidad cardiovascular los parámetros significativos tras un análisis multivariante son la creatinina > 1,5 mg/

dl, HR 11,986 (IC95%: 3,934-36,520); la glucosa, HR 1,011 (IC95%: 41,006-1,017)); la edad, HR 1,125 (IC95%: 1,083-1,168) y apo A1 HR 0,981 (IC95%: 0,967-0,995). En este momento estamos en el proceso de identificar patrones de dieta en España para desarrollar y validar un modelo geoespacial que permita reconocer subgrupos de hábitos dietéticos y que favorezcan la toma de decisiones dietéticas óptimas para la prevención de ECV.

#### E-5. LOS ANDRÓGENOS ESTIMULAN LA EXPRESIÓN DE GENES DEL METABOLISMO DEL COLESTEROL: EFECTO SINÉRGICO CON LA DEFICIENCIA DE COLESTEROL

L. Daimiel<sup>a</sup>, M.E. Fernández-Suárez<sup>b</sup>, L. Crespo-Toro<sup>c</sup>, V. de Dios<sup>c</sup>, M.A. Lasunción<sup>b,c,d</sup>, D. Gómez-Coronado<sup>b,c</sup> y J. Martínez-Botás<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup>Fundación IMDEA Alimentación. <sup>b</sup>CIBER Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición. <sup>c</sup>Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

<sup>d</sup>Universidad de Alcalá. Madrid.

**Introducción:** El metabolismo de los lípidos es una diana de la acción de los andrógenos en el cáncer de próstata y se conoce que la exposición de las células LNCaP a los andrógenos induce una acumulación de lípidos neutros en éstas. Nuestra caracterización previa del promotor de DHCR24 mostró la presencia de tres cajas CACCC en la región proximal del mismo. Las cajas CACCC constituyen elementos de unión de los factores de transcripción de la familia Sp1/KLF, de entre los cuales, KLF5 participa en la regulación de la proliferación celular, angiogénesis, remodelación cardiovascular y diferenciación de adipocitos. Así mismo, se conoce que SREBP coopera con otros factores de transcripción como NF-Y o SP1 para llevar a cabo su regulación mediada por el colesterol. Recientemente, se ha sugerido también la cooperación entre SREBP y KLF5.

**Objetivos:** Describir el efecto de los andrógenos sobre la expresión de genes del metabolismo del colesterol.

**Métodos:** El efecto de los andrógenos sobre la expresión de genes del metabolismo lipídico se estudió mediante RT-qPCR en células LNCaP tratadas con diferentes dosis de dihidrotestosterona (DHT) durante diferentes tiempos. También se estudió el efecto de la deficiencia de colesterol mediante el tratamiento de células LNCaP con lovastatina (Lov) 10 µM.

**Resultados:** Los estudios de expresión génica en las células LNCaP mostraron que el DHT incrementaba la cantidad de mRNA de DHCR24, HMGCR y LDLR de forma dependiente del tiempo y de la dosis. Así mismo, el DHT incrementó la expresión de FASN, implicado en la síntesis de ácidos grasos. Como control del tratamiento, se estudió la expresión de KLK3 (PSA). Como era de esperar, el DHT aumentó la expresión de este gen de forma tiempo y dosis dependiente. Por el contrario, la Lov inhibió su expresión. Curiosamente, cuando se combinaron Lov y DHT, se produjo una potenciación del efecto de DHT sobre la expresión de DHCR24, HMGCR, LDLR y FASN.

**Conclusiones:** Los andrógenos estimulan la expresión de los genes de la síntesis y captación de colesterol, así como la de FASN. El efecto sinérgico de DHT y Lov sugiere la cooperación de los factores de transcripción SREBP y KLF5.

#### E-11. LA ENFERMEDAD ARTERIAL PERIFÉRICA COMO FACTOR PRONÓSTICO DE NUEVOS EVENTOS CARDIOVASCULARES. COHORTE AIRVAG 10 AÑOS

C. Aranda, L. Peralta, A.I. Huelmos, E. Puras, C. Sánchez, I. González-Anglada, J.V. Castilla y C. Guijarro

Investigadores Estudio AIRVAG. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón. Madrid.

**Introducción y objetivos:** La enfermedad arterial periférica (EAP) es una patología muy prevalente asociada a un elevado riesgo cardio-

vascular. El objetivo es evaluar la asociación entre la aparición de nuevos eventos y su localización en un seguimiento a largo plazo en función de la presencia de EAP.

**Pacientes y métodos:** Cohorte prospectiva AIRVAG formada por 260 pacientes menores de 70 años con enfermedad cardiovascular de cualquier territorio. Seguimiento hasta 10 años. Se han clasificado en 4 grupos: enfermedad cerebrovascular aislada (grupo ECV; 29%), enfermedad coronaria aislada (grupo EC; 43%), EAP (28%) de los que un 42% era EAP aislada (grupo EAP) y en un 58% estaba asociada a enfermedad en otro territorio (grupo EAP-Plus). Se han calculado porcentajes para variables cualitativas ( $\chi^2$ ) y media con desviación estándar para las cuantitativas (t Student). Se ha evaluado la supervivencia libre de eventos mediante curvas de Kaplan-Meier y mediante regresión de Cox.

**Resultados:** Se produjo un segundo evento cardiovascular en 90 pacientes (35%). Un 48% del grupo EAP y EAP-Plus presentaron un segundo evento frente al 32% y 28% de los grupos ECV y EC, respectivamente ( $p = 0,006$ ). Las recurrencias de eventos en los grupos ECV y EC afectaban de forma muy mayoritaria al mismo territorio inicial (88% y 77%, respectivamente); por su parte los pacientes de los grupos EAP y EAP-Plus presentaban las recurrencias en múltiples territorios (13% ECV, 33% EC y 53% EAP, en grupo EAP y 15% ECV, 45% EC y 40% EAP, en el EAP-Plus). La supervivencia libre de evento era significativamente menor en los pacientes con EAP (55,3 +/- 37,2 meses grupo EAP y 59,5 +/- 35,3 meses en EAP-Plus VS 80,7 +/- 32,3 meses grupo ECV y 78,1 +/- 33,1 meses en EC;  $p < 0,001$ ). La presencia de EAP aumenta el riesgo global de nuevos eventos a más del doble (HR 2,31 [1,50-3,54];  $p < 0,001$ ), y de forma específica aumenta el riesgo de presentar nuevos EC (HR 2,25 [1,25-4,06];  $p = 0,007$ ), EAP (HR 7,16 [3,06-16,80];  $p < 0,001$ ) y de presentar eventos en 2 o más territorios (HR 3,14 [1,13-8,70];  $p = 0,028$ ). No se asocia a un mayor riesgo de ECV.

**Conclusiones:** Los pacientes con EAP duplican el riesgo de presentar nuevos eventos CV en cualquier localización (preferentemente EAP y EC) y de forma más precoz con respecto a los pacientes con afectación clínica de otros territorios. Este aumento del riesgo se mantiene en todos los pacientes con EAP, independientemente de que exista enfermedad vascular asociada en otro territorio.

#### G-1. ANÁLISIS DE VARIANTES EN GENES CANDIDATOS PARA HIPERCOLESTEROLEMIAS POLIGÉNICAS

I. de Castro-Orós<sup>a,b</sup>, M. Solanas<sup>b,c</sup>, M. León<sup>b</sup>, M. Cofán<sup>d,e</sup>, J.A. Casasnovas<sup>b,d</sup>, J.C. Rodríguez-Rey<sup>f</sup>, E. Ros<sup>e</sup>, F. Civeira<sup>b,c</sup> y M. Pocoví<sup>g,h</sup>

<sup>a</sup>RECAVA. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. <sup>b</sup>Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS). Zaragoza. <sup>c</sup>RECAVA. Unidad de Lípidos. Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. <sup>d</sup>Unidad de Investigación Cardiovascular. Zaragoza. <sup>e</sup>Unitat de Lípids. Servei d'Endocrinologia i Nutrició. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Barcelona y CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERobn).

<sup>f</sup>Departamento de Biología Molecular. Facultad de Medicina. Instituto de Formación e Investigación Marqués de Valdecilla (IFIMAV). Santander. <sup>g</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. CIBER de enfermedades raras (CIBERER). ISCIII. Zaragoza.

**Introducción:** La hipercolesterolemia debida a concentraciones elevadas de colesterol-LDL (cLDL) es el principal factor de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis. La mayor parte de los casos de hipercolesterolemia son el resultado de interacciones complejas entre genes y ambiente. La causa más frecuente de cLDL elevado es la hipercolesterolemia poligénica (HCP). Nuestro objetivo fue Identificar variantes en genes candidatos que contribuyan a la causa genética de la HCP.

**Métodos:** Seleccionamos 378 sujetos no relacionados con HCP, con los siguientes criterios de inclusión: cLDL ≥ percentil 90 y TG ≤ 200 mg/dl sin mutaciones en *LDLR* ni *APOB*. Además, analizamos un grupo control de 525 normolipémicos procedentes del estudio AWHS (Aragón Working Health Study). Utilizando la tecnología de análisis masivo de polimorfismos de un solo Nucleótido (SNPs), Solexa (Illumina®) genotipamos todos los sujetos para 18 SNPs en los genes *APOE*, *APOB*, *PCSK9*, *NR5A2*, *SREBF1* y *LDLR*.

**Resultados:** En 5 variantes genéticas, observamos una distribución alélica con diferencias estadísticamente significativas entre la población control y los sujetos con HCP (tabla). Los resultados muestran una asociación directa de los SNPs, situados en 5'UTR, rs51235, rs617314 y rs58429712 de *APOB* con HCP, mientras que los SNPs, también en 5'UTR, rs9427440 de *NR5A2* y rs17248720 de *LDLR* se asocian inversamente con HCP.

#### Frecuencia alélica del alelo minoritario en población control y HCP

	Frecuencia alélica		<i>p</i> <
	Control	HCP	
<i>APOB</i> rs51235	0,444	0,497	0,0250
<i>APOB</i> rs617314	0,272	0,333	0,0055
<i>APOB</i> rs58429712	0,027	0,092	0,0001
<i>NR5A2</i> rs9427440	0,387	0,260	0,0001
<i>LDLR</i> rs17248720	0,164	0,087	0,0001

**Conclusiones:** Hemos identificado 5 SNPs que contribuyen de forma significativa a la expresión del fenotipo HCP. Los 3 SNPs de *APOB* se asocian directamente con el fenotipo de HCP, mientras que los SNPs de *LDLR* y *NR5A2* protegerían aparentemente del desarrollo de hipercolesterolemia.

#### G-3. VARIANTES GENÉTICAS DE APOA5 SE ASOCIAN A DISLIPEMIA ATEROGÉNICA Y ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES DISLIPÉMICOS

M. Guardiola<sup>a</sup>, M. Cofán<sup>b</sup>, E. Jarauta<sup>c</sup>, A. Cenarro<sup>c</sup>, N. Plana<sup>a</sup>, E. Ros<sup>b</sup>, F. Civeira<sup>a</sup> y J. Ribalta<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi. Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Institut d'Investigacions Sanitàries Pere Virgili. Universitat Rovira i Virgili. CIBERDEM. Reus. <sup>b</sup>Unitat de Lípids. Hospital Clínic. Barcelona. <sup>c</sup>Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS). Zaragoza.

**Introducción:** Las concentraciones séricas de triglicéridos son un factor de riesgo cardiovascular ya que inducen cambios cuantitativos y cualitativos en subclases de lipoproteínas. Puesto que la APOA5 es un regulador clave de la trigliceridemia, elaboramos la hipótesis que ciertas variantes de APOA5 se asociarían a un perfil de lipoproteínas aterogénico en sujetos con dislipemia primaria.

**Métodos:** Genotipamos los polimorfismos -1131T > C y S19W de APOA5 en 422 sujetos dislipémicos no tratados. La distribución de subclases de lipoproteínas (quilomicrones; VLDL grandes, medianas y pequeñas; IDL; LDL grandes, medianas y pequeñas; y HDL grandes, medianas y pequeñas) se analizó mediante resonancia magnética nuclear. El grosor intima-media (IMT) carotídeo se determinó mediante ecografía en modo B.

**Resultados:** Los alelos -1131C y 19W de APOA5 se asociaron a alteraciones en la concentración de las VLDL y LDL, y en el tamaño de las HDL, resultando en un aumento en las concentraciones de las especies proaterogénicas y un descenso en las antiaterogénicas (+133% de VLDL grandes, *p* < 0,001; +34% de LDL pequeñas, *p* = 0,007; -15% de LDL grandes, *p* = 0,038; +71% de HDL medianas, *p* = 0,016; y -18% de HDL grandes, *p* = 0,023). El efecto fue significativamente mayor en el subgrupo de pacientes con sobrepeso. Los portadores de las variantes

genéticas asociadas a dicho perfil aterogénico presentaban un grosor de la IMT carotídea significativamente mayor que los no portadores (*p* = 0,014).

**Conclusiones:** En una población dislipémica el gen APOA5 modula la distribución de subclases de lipoproteínas induciendo un perfil aterogénico que se asocia a arteriosclerosis subclínica, particularmente en sujetos con sobrepeso.

#### F-4. PAPEL EN LA MIGRACIÓN LINFOCITARIA DE LA CCL20: QUIMIOQUINA INDUCIDA POR LDL EN CMLV Y CUYOS NIVELES PLASMÁTICOS ESTÁN AUMENTADOS EN PACIENTES HIPERCOLESTEROLÉMICOS

O. Calvayrac<sup>a</sup>, R. Rodríguez-Calvo<sup>a</sup>, J. Alonso<sup>a</sup>, J. Orbe<sup>b</sup>, A. Guadall<sup>a</sup>, O. Beloqui<sup>b</sup>, J.A. Páramo<sup>b</sup>, C. Rodríguez<sup>a</sup> y J. Martínez-González<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC). Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. <sup>b</sup>Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona.

**Introducción:** Múltiples estudios han destacado el papel de las LDL en la respuesta inflamatoria crónica asociada a la aterogénesis. Además, en los últimos años se ha implicado a la respuesta inmune innata y adaptativa en la atherosclerosis, y se ha resaltado el papel de las LDL en la respuesta de los linfocitos T. Sin embargo, no se han identificado las moléculas específicas que controlan la infiltración linfocitaria en las lesiones ateroscleróticas. Hemos analizado el papel de la quimioquina CCL20 en la actividad migratoria de linfocitos inducida por LDL y determinado su relevancia *in vitro* e *in vivo*.

**Métodos:** Se utilizaron células musculares lisas vasculares (CMLV) de arterias coronarias humanas y linfocitos humanos aislados de *buffy coats*. La expresión de CCL20 y de su receptor CCR6 se determinó mediante PCR en tiempo real y los niveles de proteína CCL20 mediante EIA. La migración de linfocitos se evaluó utilizando un sistema de *Transwell*. La expresión de CCL20 se bloqueó con siRNA específicos y su actividad biológica se inhibió con anticuerpos bloqueantes. Se realizaron estudios de inmunohistoquímica para caracterizar la presencia de CCL20 en lesiones arterioscleróticas humanas, y se analizó el nivel de activación transcripcional de CCL20 en estas lesiones mediante ensayo de retardo en gel (EMSA). Se determinaron los niveles circulantes de CCL20 en una cohorte de pacientes con aterosclerosis subclínica seleccionados en base a sus niveles de colesterol total (50 controles vs 50 pacientes hipercolesterolémicos [colesterol total > 240 mg/dL]).

**Resultados:** Las LDL inducen la expresión de CCL20 en CMLV así como su liberación al medio de cultivo. La CCL20 secretada por las CMLV en respuesta a las LDL promueve la migración de linfocitos humanos; de hecho, al inhibir su expresión con siRNA o bloquear su actividad con anticuerpos, se redujo significativamente la migración linfocitaria. Tanto la expresión de CCL20 como la de su receptor (CCR6) están incrementadas en las lesiones ateroscleróticas de pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) respecto a arterias sin lesión. Mediante EMSA observamos que la actividad transcripcional de CCL20 mediada por NF-kappaB también está aumentada en lesiones ateroscleróticas. Los estudios de inmunohistoquímica detectaron CCL20 en áreas de mayor actividad de NF-kappaB colocalizando con CMLV, monocitos/macrófagos y células endoteliales. Finalmente, los niveles circulantes de CCL20 están incrementados en pacientes hipercolesterolémicos con aterosclerosis subclínica y mayor riesgo cardiovascular (determinado según escala PROCAM).

**Conclusiones:** Se demuestra por primera vez que la modulación por LDL de CCL20 en las CMLV humanas puede ser funcionalmente relevante en la regulación de la migración de las células implicadas en la respuesta inmune. El aumento en la expresión de esta quimioquina en lesiones ateroscleróticas de pacientes con EAC y su asociación con

la hipercolesterolemia permiten postular a CCL20 como un nuevo biomarcador de riesgo cardiovascular. Este trabajo ha sido financiado a través de los proyectos SAF2009-11949, PS09/01797 y RECAVA.

#### F-5. EFECTO ANTIPIROLIFERATIVO Y ANTIFIBRÓTICO DE LOS TRITERPENOS ERITRODIOL Y UVAOL EN CARDIOMIOFIBROBLASTOS DE RATA ESTIMULADOS CON ANGiotensina II

E. Martínez<sup>a</sup>, M. Miana<sup>a</sup>, R. Martín<sup>b</sup>, R. Jurado<sup>a</sup>, M. Nieto<sup>b</sup>, M.V. Bartolomé<sup>c</sup>, V. Lahera<sup>a</sup> y V. Cachofeiro<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Medicina. Departamento de Fisiología. Universidad Complutense de Madrid. <sup>b</sup>Facultad de Medicina. Instituto de Biología y Genética Molecular. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Universidad de Valladolid. <sup>c</sup>Facultad de Psicología. Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología. Universidad Complutense de Madrid.

**Introducción:** El eritrodiol y su isómero el uvaol, forman parte del aceite de oliva, alimento característicos de la dieta mediterránea. Ambos triterpenos han demostrado tener un efecto antiproliferativo sobre células cancerígenas, así como acciones beneficiosas sobre el sistema cardiovascular. Los cardiomiofibroblastos son una de las estirpes celulares mayoritarias en el corazón jugando un importante papel en el mantenimiento de la estructura y función cardiaca. Su diferenciación a cardiomiofibroblastos ocurre tras un evento coronario agudo, confiriéndole propiedades características de las células de músculo liso tales como la producción de matriz extracelular. Por lo tanto, teniendo en cuenta el papel que juegan los cardiomiofibroblastos en la reparación del tejido dañado y los efectos beneficiosos de los triterpenos a nivel cardiovascular, el objetivo de nuestro estudio fue investigar el papel de dichos triterpenos en la respuesta proliferativa y profibrótica inducida por angiotensina II en cardiomiofibroblastos.

**Métodos:** Se utilizaron cardiomiofibroblastos en pase 2-3 procedentes de ratas Wistar. Se caracterizó la estirpe celular mediante inmunocitoquímica valorando la expresión de vimentina y  $\alpha$ -actina de músculo esquelético ( $\alpha$ -SMA). La proliferación celular se valoró mediante el método CellTiter 96 Non-Radioactive en presencia de los triterpenos uvaol y eritrodiol (5-50  $\mu$ mol/l) y de distintos inhibidores: el antagonista de la vía Ras/ERK (PD98059; 5-50  $\mu$ mol/l), el antagonista de PPAR- $\gamma$  (GW9662; 1-10  $\mu$ mol/l), y el inhibidor de la JUNK (SP600125; 5-20  $\mu$ mol/l). Se valoraron los niveles proteicos de ERK fosforilada y ERK total, PPAR- $\gamma$ ,  $\alpha$ -SMA, colágeno I y galectina-3 mediante Western Blot. Mediante citometría de flujo se determinó la unión de anexina-V en presencia de angiotensina II y dosis elevadas de ambos triterpenos (25-50  $\mu$ mol/l) así como en presencia del conjunto de inhibidores mencionados previamente.

**Resultados:** La expresión de  $\alpha$ -SMA y vimentina indicó la diferenciación hacia cardiomiofibroblastos. Ambos triterpenos redujeron el aumento de proliferación causada por la angiotensina II ( $10^{-6}$  M), efecto que fue revertido tras la coincubación con GW-9662 pero no con SP600125. La fosforilación de ERK 1/2 inducida por la angiotensina II únicamente fue reducida en presencia de altas dosis de eritrodiol y uvaol. Los triterpenos revirtieron la disminución en los niveles proteicos del PPAR- $\gamma$  producida por la angiotensina II. Eritrodiol y uvaol a altas dosis aumentaron la unión a anexina-V, en presencia y en ausencia de angiotensina II, efecto que se bloqueó con SP600125 y GW-9662. El aumento en la expresión proteica de colágeno I y galectina -3 inducido por angiotensina II se revirtió en presencia de ambos triterpenos.

**Conclusiones:** La proliferación de cardiomiofibroblastos inducida por angiotensina II es modulada por ambos triterpenos mediante la inducción de PPAR- $\gamma$ . Dosis elevadas de estos compuestos activan

procesos de apoptosis activando las vías de la JUNK y el PPAR- $\gamma$ . La disminución de los niveles de colágeno I y de galectina-3 demuestran que ambos triterpenos modulan el efecto profibrótico de la angiotensina II.

Agradecimientos: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI09/0871). Red Cardiovascular del FIS (RECAVA, RD06/0014/0007 y RD06/0014/0000).

#### DN-9. CERVEZA, DIETA MEDITERRÁNEA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR: NUESTRA EXPERIENCIA EN EL ESTUDIO “PREDIMED”

R. Estruch<sup>a,b</sup>, M. Urpí-Sardà<sup>a,b</sup>, G. Chiva-Blanch<sup>a,b</sup>, E.S. Romero<sup>a,b</sup>, M.I. Covas<sup>a</sup>, J. Salas-Salvadó<sup>a,c</sup>, J. Wärnberg<sup>d</sup> y R.M. Lamuela-Raventós<sup>a,e</sup>

<sup>a</sup>CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBEROBN 060c). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. <sup>b</sup>Departamento de Medicina Interna. Hospital Clínic. Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universitat de Barcelona. <sup>c</sup>Instituto Municipal de Investigación Biomédica (IMIM). Barcelona.

<sup>d</sup>Departamento de Epidemiología y Salud Pública. Universidad de Málaga. <sup>e</sup>Departamento de Nutrición y Bromatología-XaRTA. INSA. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona.

**Introducción:** La dieta mediterránea es un patrón de alimentación que incluye un consumo alto de aceite de oliva, cereales, fruta, verdura, legumbres y frutos secos, un consumo moderado-alto de pescado, una ingesta baja de carne roja y derivados, y un consumo moderado de vino. No obstante, alguna pirámide de dieta mediterránea (SENC-2004) también incluye un consumo moderado de cerveza. Como el consumo de cerveza se ha ligado a patrones alimentarios menos saludables en los países anglosajones, cabe preguntarnos si ocurre lo mismo en los países mediterráneos.

**Objetivos:** Estudiar en una serie de participantes incluidos en el estudio PREDIMED la relación entre consumo de cerveza, factores de riesgo vascular, patrón de alimentación y actividad física.

**Métodos:** En un estudio anidado dentro del ensayo PREDIMED (<http://www.predimed.org>) se incluyeron 1.779 participantes de los nodos del H. Clínico de Barcelona, Reus y Navarra que fueron evaluados al inicio y al año. Se incluyeron varones entre 55-80 años, y mujeres entre 60-80 años, que presentaran Diabetes mellitus y/o  $\geq 3$  factores de riesgo cardiovascular. Al inicio y al año, todos los participantes cumplimentaron un cuestionario de frecuencia de consumo, otro de adherencia a la dieta mediterránea y otro de medida de actividad física, se les determinó la presión arterial, se les midieron los parámetros antropométricos y se les extrajo sangre para análisis.

**Resultados:** Los participantes se dividieron en tres grupos: abstemios ( $n = 1.195$ ), bebedores ocasionales de cerveza (1-50 ml/d; media  $31 \pm 12$  ml;  $n = 372$ ) y bebedores habituales ( $> 50$  ml/día; media  $295 \pm 318$  ml/d;  $n = 212$ ). Estos últimos tenían menor edad, eran preferentemente varones y fumadores, y presentaban una menor prevalencia de diabetes mellitus e hipertensión. Asimismo, los bebedores habituales consumían mayor cantidad de aceite de oliva, verduras, legumbres, carne, pescado y cereales integrales que los abstemios. Su consumo energético total también era mayor, al igual que su ingesta de proteínas, hidratos de carbono (fibra) y ácidos grasos moninsaturados. En cambio, los bebedores habituales presentaron un índice de masa corporal menor que los abstemios, sin cambios en el perímetro abdominal. Finalmente, los bebedores de cerveza presentaron cifras de glucemia, hemoglobina glicosilada y homocisteína menores y unas cifras de ácido fólico mayores que los otros grupos. No se apreciaron cambios en la presión arterial, ni en los otros parámetros bioquímicos analizados.

**Conclusiones:** Al contrario de los países anglosajones, los bebedores de cerveza españoles refieren tener hábitos de vida más saludables, ya que siguen un patrón de alimentación más próximo a la dieta mediterránea tradicional que los abstemios, y presentan menor prevalencia de diabetes e hipertensión, menor índice de masa corporal, igual perímetro abdominal y menores concentración plasmática de glucosa y homocisteína que los abstemios, lo que supone un menor riesgo vascular.

Agradecimientos: PI 07/0473, CNIC 06-2007-S01, AGL-2006-14228-C03-01, AGL-2007-66638-C02-02, AGL-2009-13906-C02-02.

#### **DN-12. EL TRATAMIENTO CON UN EXTRACTO DE PIEL DE ALMENDRA RICO EN PROANTOCIANIDINAS MEJORA LAS ALTERACIONES CARDÍACAS ASOCIADAS AL HIPERALDOSTERONISMO EN RATAS. COMPARACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON ESPIRONOLACTONA**

M. Valero-Muñoz, B. Martín-Fernández, N. de las Heras, S. Ballesteros, V. Cachofeiro y V. Lahera

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

**Introducción:** Diversos estudios han demostrado que el consumo de almendras está inversamente relacionado con la incidencia de enfermedad cardiovascular. La piel de la almendra contiene una gran variedad de compuestos fenólicos, entre ellos proantocianidinas con diferente grado de polimerización, que podrían ejercer un efecto cardioprotector mediante acciones antioxidantes y antihipertensivas.

**Objetivos:** 1) Evaluar el efecto del tratamiento con un extracto de piel de almendra (EPA) rico en proantocianidinas sobre la presión arterial y las alteraciones de la hemodinámica cardíaca asociadas al hiperaldosteronismo experimental en ratas. 2) Estudiar los efectos del EPA sobre las alteraciones cardíacas estructurales y moleculares en este modelo experimental. 3) Comparar los efectos del EPA con el tratamiento con el antagonista de los receptores de mineralocortoides, espironolactona.

**Métodos:** Se utilizaron ratas macho Wistar (250 g) que fueron divididas en cuatro grupos: control (CT), animales tratados con aldosterona [(1 mg/Kg/día s.c.) + 1%NaCl (v.o.)] (ALDO), animales tratados con aldosterona+1%NaCl+EPA (100 mg/Kg/día) y animales tratados con aldosterona + 1%NaCl+Espironolactona (200 mg/Kg/día s.c.) (ESP) durante 21 días. Al final del periodo experimental se evaluó la hemodinámica cardíaca: presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y media (PAM), frecuencia cardíaca (FC), presión diastólica final (pDF) del ventrículo izquierdo, presión sistólica máxima del ventrículo izquierdo (PSVI) y los índices de contractilidad (dP/dt+) y relajación (dP/dt-) cardíaca. Se determinó la expresión génica de mediadores fibróticos (CTGF, TGF-β, colágeno I y III, MMP-2 y su inhibidor TIMP-2), de inflamación (IL-1β y TNF-α), de oxidación (NADPH oxidasa, xantina deshidrogenasa) y de defensa antioxidant (catalasa y superóxido dismutasa).

**Resultados:** La PAS, PAD, PAM, pDF, PSVI y el peso relativo del corazón fueron mayores ( $p < 0,05$ ) en el grupo ALDO respecto al grupo CT. El tratamiento con EPA y con ESP normalizaron estos parámetros ( $p < 0,05$ ). La dP/dt- disminuyó en el grupo ALDO respecto a CT y fue incrementada por ambos tratamientos ( $p < 0,05$ ). El contenido de colágeno aumentó en los animales tratados con ALDO y ambos tratamientos lo disminuyeron ( $p < 0,05$ ). La expresión génica de TGF-β, CTGF, colágeno I y III, MMP-2 y TIMP-2 fue mayor en el grupo ALDO respecto a CT. El tratamiento con EPA y con ESP redujeron o normalizaron estos valores ( $p < 0,05$ ). Asimismo, la expresión cardíaca de IL-1β y TNF-α aumentaron de forma significativa en el grupo ALDO, y tanto EPA como ESP mejoraron la expresión de estos mediadores ( $p < 0,05$ ). En el grupo ALDO la expresión génica de NADPH oxidasa, xantina deshidrogenasa, catalasa y superóxido dismutasa aumentó

respecto al grupo CT y ambos tratamientos normalizaron estos valores.

**Conclusiones:** El EPA rico en proantocianidinas previene de manera similar a la ESP las alteraciones cardíacas hemodinámicas, fibróticas, inflamatorias y oxidativas producidas por el hiperaldosteronismo en ratas.

#### **DN-19. EFECTO DEL CONSUMO DE UNA DIETA MEDITERRÁNEA SUPLEMENTADA EN COENZIMA Q<sub>10</sub> SOBRE GENES RELACIONADOS CON ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE PERSONAS DE EDAD AVANZADA**

L. González-Guardia<sup>a</sup>, N. Delgado-Casado<sup>a</sup>, E.M. Yubero-Serrano<sup>a</sup>, J. Delgado-Lista<sup>a</sup>, O. Rangel-Zúñiga<sup>a</sup>, J.M. Villalba<sup>b</sup>, F. Pérez-Jiménez<sup>a</sup> y J. López-Miranda<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Servicio de Medicina Interna. IMIBIC/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba y CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. <sup>b</sup>Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Universidad de Córdoba.

**Introducción:** El estrés en el retículo endoplásmico (RE) se relaciona con la patogenia de importantes enfermedades como la diabetes o la arteriosclerosis. Estudios previos sugieren que la dieta con alto contenido en antioxidantes puede retrasar el proceso aterogénico disminuyendo el grado de estrés del RE. La coenzima Q<sub>10</sub> (CoQ) además de su función como transportador de electrones mitocondrial, posee una potente acción antioxidante, contra la formación de lipoperoxídos o de forma indirecta a través del reciclado de otros antioxidantes. El objetivo de este estudio es analizar el efecto postprandial de tres dietas con diferente composición grasa, una de ellas suplementada en CoQ, sobre la expresión de genes relacionados con el estrés del RE.

**Métodos:** 20 personas (10 hombres y 10 mujeres) con edad superior a 65 años siguieron tres períodos de intervención dietética, de forma aleatorizada-cruzada de cuatro semanas de duración: A. Dieta mediterránea rica en aceite de oliva suplementada con CoQ, Med+CoQ (200 mg/día). B. Dieta mediterránea rica en aceite de oliva, Med. C. Dieta rica en grasa saturada, SFA. Al final del período de intervención y tras 12 h de ayuno los sujetos recibieron una sobrecarga grasa. A las 0, 2 y 4 h de la sobrecarga se determinó la expresión de genes que codifican para proteínas relacionadas con la respuesta al estrés en el RE: GST-Pi (glutathion S-transferase pi), sXBP (x box binding protein), CRT (calreticulin) y BiP (heat shock 70kDa protein) en células mononucleares de sangre periférica.

**Resultados:** Tras la intervención dietética se obtuvo una disminución posprandial en la expresión del gen CRT después del consumo de la dieta Med ( $p = 0,020$ ) y Med+CoQ ( $p = 0,005$ ) con respecto a la dieta SFA. Además, a las 2 h de la sobrecarga grasa se objetivó un aumento postprandial en la expresión del gen sXBP1 tras la dieta SFA en comparación con la dieta Med ( $p = 0,035$ ), así como un aumento en los niveles de expresión del gen BiP tras la dieta SFA con respecto a las dietas Med ( $p = 0,012$ ) y Med+CoQ ( $p = 0,031$ ). A las 4 h se obtuvo un aumento posprandial en la expresión del gen sXBP1 tras la dieta SFA en relación con la dieta Med ( $p = 0,040$ ). No se obtuvieron diferencias significativas en los niveles de GST-Pi tras la ingesta de las diferentes dietas.

**Conclusiones:** Nuestros resultados demuestran una disminución en la expresión de genes involucrados en la respuesta al estrés en el RE tras el consumo de una dieta Med rica en aceite de oliva, con o sin suplementar en CoQ, comparada con una dieta occidental rica en grasa saturada, sugiriendo que dicha ingesta podría amortiguar el estrés producido en el RE. Así, la dieta Med es modelo adecuado para la prevención de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, tal como la arteriosclerosis o la diabetes.

## T-5. EFECTO DE LOS ANTIPSICÓTICOS SOBRE EL pH LISOSOMAL Y SU IMPLICACIÓN EN LA HOMEOSTASIS INTRACELULAR DE COLESTEROL

A. Canfrán-Duque<sup>a</sup>, O. Pastor<sup>b</sup>, M. Lerma<sup>a</sup>, P. Mariscal<sup>a</sup>, M.E. Casado<sup>a,c</sup>, L. Barrio<sup>d</sup>, R. Bustos<sup>a,c</sup> y M.A. Lasunción<sup>a,c,e</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Bioquímica-Investigación. <sup>b</sup>Servicio de Bioquímica Clínica.

<sup>d</sup>Servicio de Neurofisiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal.

IRYCIS. Madrid. <sup>c</sup>Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERONB). ISCIII. Madrid. <sup>e</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Alcalá. Madrid.

**Introducción:** Los antipsicóticos se utilizan ampliamente para el tratamiento de las alteraciones neuropsiquiátricas. Entre sus efectos secundarios destacan el incremento del peso corporal y de la concentración plasmática de triglicéridos, así como episodios hiperglucémicos. Recientemente hemos demostrado que el haloperidol (antipsicótico de primera generación) inhibe diversos pasos de la biosíntesis del colesterol e interfiere en el tráfico intracelular de las LDL. Esto produce un descenso del contenido intracelular de colesterol, mientras se incrementan otros esterolos intermediarios. La composición iónica de los distintos compartimientos intracelulares difiere de la del citoplasma, y es única y característica para cada uno de ellos, habiendo un gradiente descendiente de pH desde el retículo endoplasmático (pH~ 7,1) a los lisosomas (pH~ 4,5). Esta composición iónica es importante para la función de los orgánulos.

**Objetivos:** Determinar el efecto de antipsicóticos sobre el pH de los lisosomas, el tráfico intracelular de colesterol y la composición celular de esterolos.

**Métodos:** Las células se trataron con antipsicóticos de primera (clozapina, haloperidol) y de segunda generación (risperidona y ziprasidona) durante 24 h. Los esterolos se analizaron por HPLC en fase reversa y GC/MS. La localización de las proteínas y colesterol se realizó mediante inmunocitoquímica. El pH se midió por microscopía confocal.

**Resultados:** Todos los antipsicóticos utilizados inhibieron la biosíntesis de colesterol pero mostraron diferencias en cuanto al perfil de los esterolos intermediarios acumulados. La intensidad de la inhibición de estos dependía de la dosis del fármaco y del tipo celular utilizado. Estos fármacos inhibieron también el tráfico intracelular de lípidos, acumulando colesterol libre en los lisosomas/endosomas tardíos. Para profundizar en el esclarecimiento los mecanismos de acción de estos fármacos se eligió el haloperidol; determinándose el pH de los lisosomas, factor clave en la fusión de los lisosomas con otros orgánulos y la propia membrana celular. Observamos que el haloperidol aumenta el pH lisosomal, lo cual puede explicar la acumulación de lípidos en estos orgánulos.

**Conclusiones:** El antipsicótico de primera generación, haloperidol, alcaliniza los lisosomas; lo cual puede explicar la inhibición de la salida de colesterol desde estos orgánulos hacia el retículo endoplasmático y la membrana plasmática, con la consiguiente alteración de la homeostasis de este lípido.

Financiación: MICINN (SAF2008-01104); CIBERONB, ISCIII; FIBio-HRC, España.