

Genética endocrina

83

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO I/D DEL GEN DE LA ECA (ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA) Y OBESIDAD MÓRBIDA

M.D. Saavedra Ontiveros^a, A.I. Jiménez Millán^a, M. Orera Clemente^b, C. Palma Carazo^b y B. Moreno Esteban^a

^aUnidad de Obesidad. ^bUnidad de Genética. HGU Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: El sistema renina angiotensina desempeña un papel importante en la patogénesis de la enfermedad metabólica. Recientemente se ha descrito que este sistema está también expresado en el tejido graso, sugiriendo un papel en el crecimiento del adipocito y en la diferenciación a angiotensina II.

Objetivos: El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de un estudio de casos y controles para determinar la asociación entre el polimorfismo I/D del gen ACE (Angiotensin Convertase Enzime) y la obesidad mórbida.

Material y métodos: Para tal fin se realizó un estudio de PCR para determinar la presencia o ausencia de la delección en el gen analizando una muestra de 104 pacientes de la Unidad de Obesidad del HGU Gregorio Marañón con IMC $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ y 108 sujetos controles de la población general no obesa (IMC ≤ 25).

Resultados: El estudio de PCR se realizó simultáneamente en los 212 sujetos, observando que el 68.3% de los pacientes obesos tenían el genotipo D/D mientras que sólo el 22.1% de los controles lo presentaban. El análisis estadístico demostró una diferencia significativa entre ambos grupos.

Conclusiones: La mayor frecuencia del genotipo DD del gen de la ECA observada en la población obesa mórbida, sugiere que ésta podría ser un factor que contribuye en el desarrollo de dicha enfermedad.

84

CARCINOMA MEDULAR DE TIROIDES (CMT) ASOCIADO A UNA NUEVA MUTACIÓN EN EL CODON 611 DEL PROTOONCOGEN RET

M. Paja, C. Moreno, A. Ruiz, A. Cadenas, E. Ugarte y A. Oleaga

Servicio de Endocrinología. Hospital de Basurto. Bilbao.

Introducción: Las formas familiares del CMT abarcan el 25% de los CMT espontáneos. Originados en mutaciones del protooncogen RET de herencia A.D. con penetrancia cercana al 100%, afectan a diversos codones, con correlación genotipo-fenotipo. Los CMT familiares aislados (CMTF), son usualmente de diagnóstico más tardío y menos agresivos que los diagnosticados en síndromes MEN 2, especialmente MEN 2B. Las mutaciones del codón 611 substituyen el residuo de cisteína por serina, arginina, triptófano, tirosina, fenilalanina o glicina, las dos últimas asociadas a CMTF y las otras cuatro a MEN 2A. Presentamos una familia con una mutación en 2 bases de este codón, hasta ahora no descrita. Analizamos su expresión clínica familiar.

Caso clínico: Paciente de 60 años que consultó por bocio de larga data. Eutiroide, la ecografía mostraba un nódulo sólido izquierdo con calcificaciones puntuales, y discreta estenosis traqueal. La PAAF fue de proliferación folicular. Se realizó una hemitiroidectomía. La anatomía patológica mostró un

CMT intratiroideo de 4,5 cm. Al mes de la intervención la calcitonina (CT) era de 30 pg/ml (N < 12), con CEA de 178 ng/ml (N < 3,4). Se completó la tiroidectomía a los 3 meses, apareciendo un segundo foco intratiroideo de 2 mm, sin adenopatías infiltradas en la disección del compartimento central. La secuenciación del DNA del oncogen RET evidenció una doble mutación del codón 611 de TGC a TTT, que cambia a codificar fenilalanina (C611F). La CT a los 3 meses de la intervención era menor de 9 pg/ml, CEA de 2,1 ng/ml, metanefrinas normales, CgA: 41,6 ng/ml (N < 100) y calcio y PTHi normales. Seis meses después permanecía indetectable la CT. El estudio de sus dos hijas descubrió una portadora de 39 años, con CT de 12 ng/ml, CEA, metanefrinas y calcio y PTHi normales, y un nódulo tiroideo ecográfico de 3 mm. De sus dos hijos, uno de 14 años es portador de la mutación, con CT < 9, CEA normal, metanefrinas y metabolismo fosfocalcico sin alteraciones. La ecografía no muestra nódulos. Estos dos casos están pendientes de intervenir.

Conclusiones: Presentamos una nueva mutación del codón 611 del oncogen RET, con un fenotipo ya descrito (cisteína por fenilalanina) y curso clínico indolente, con probando mayor de 60 años sin evidencia de enfermedad extratiroidea. Se plantea la posibilidad de una actitud más conservadora ante esta mutación que la propuesta en el consenso del 7th Workshop on MEN, que aconseja la tiroidectomía total a los 5 años en mutaciones del codón 611. Sugerimos la asociación de esta mutación con el CMTF, pero al no disponer de 10 casos familiares no podemos descartar un MEN2A. La otra mutación asociada a este cambio de aminoácidos (TGC a TTC, descrita en el 2001), también se ha asociado a CMTF y poca agresividad clínica.

85

DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS EN ABCG5 Y ABCG8 EN UNA POBLACIÓN DIABÉTICA

E. Aguiló Gutiérrez^a, M. Diez Muñiz-Alique^a, F. Calvo Gracia^a, C. Blasco Comenge^b y E. Faure Nogueras^a

^aEndocrinología y Nutrición HCU Lozano Blesa.

^bLaboratorio de Hormonas HCU Lozano Blesa. Zaragoza.

Introducción: Los genes ABCG5 y ABCG8 codifican proteínas transportadoras de ATP (ABC) de la familia G encargadas de limitar la absorción intestinal y promover la excreción biliar de esterolos. Mutaciones en estos genes se han identificado como causa de sitosterolemia (I523V, C600Y, Q604E y M622V en ABCG5; D19H, Y54C, T400K, A632V y Y641F en ABCG8). El polimorfismo D19H de ABCG8 se ha relacionado con niveles bajos de absorción de colesterol y mayor reducción de colesterol LDL tras terapia con atorvastatina; características de insulineresistencia en hombres se han asociado al polimorfismo Q604E de ABCG5.

Objetivos: Estudiar la prevalencia de los polimorfismos Q604E de ABCG5 y D19H de ABCG8 en una población de pacientes diabéticos tipo 2 para valorar posteriormente su posible asociación con niveles de colesterol total, c-HDL, c-LDL, triglicéridos, actividad LPL y sub-fracciones LDL, así como, niveles de glucosa, HbA₁C, índice cintura-cadera y BMI (Kg/m²) en esta población diabética.

Material y método: Se estudiaron 112 muestras de DNA de pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Se realizó PCR y posterior determinación de los polimorfismos lipídicos ABCG5

(1950 C > G o Q604E) y ABCG8 (-19 T > G) y 55G > C (D19H). Se obtuvieron mediante ultracentrifugación en gradiante, según el método descrito por Sanchez-Quesada, 6 subfracciones de LDL en orden creciente de densidad de LDL1 a LDL6. Por otra parte, se midió la actividad postheparina de LPL (pH-LPL, Pkat/ml). Las concentraciones de colesterol total, triglicéridos y c-HDL fueron determinadas por técnicas enzimáticas. El c-LDL fue calculado por la fórmula de Friedewall.

Resultados: En cuanto ABCG5, se observaron 20 sujetos heterocigotos GC y sólo uno homocigoto GG (18,75%). Respecto a ABCG8, de los 112 diabéticos un 8,9% eran heterocigotos para 55G>C y no se encontró ningún homocigoto. La prevalencia descrita en población general hipercolesterolemica para estos polimorfismos es del 21,7% y 14,8% respectivamente. El 32,14% de los sujetos eran heterocigotos para la mutación (-19 T>G) de ABCG8 y el 13,39% homocigotos para dicha mutación.

Conclusiones: La prevalencia en nuestra muestra de los distintos haplotipos de los polimorfismos es similar a la descrita en sujetos hipercolesterolemicos. Destaca el porcentaje de los sujetos heterocigotos y homocigotos para la mutación (-19 T>G) del promotor de ABCG8. Pendiente de evaluar la asociación entre los diversos polimorfismos y los marcadores fenotípicos estudiados, que se expondrán posteriormente.

86

INTERACCIÓN LEPTINA-CRH COMO BASE DE LA SUSCEPTIBILIDAD HEREDADA A PADECER OBESIDAD MÓRBIDA

R. Rodríguez-López^a, J.A. Cabranes^b, I. Ancín^a, M. Saenz^b, J. García-Albea^b, C. de Ugarte^a, M.A. Rubio^c, B. Vázquez^a, J.J. López-Ibor^b y A. Barabash^a

^aLaboratorio Psiconeuroendocrinología y Genética Molecular. Unidad de Investigación, HCSC. ^bServicio Psiquiatría, HCSC. ^cServicio de Endocrinología, HCSC.

La etiología de la obesidad mórbida (OM) se atribuye en un 40 a un 70% al perfil genético individual. El estudio de Síndromes de obesidad hereditaria ha señalado un amplio conjunto de genes que podrían contener variantes polimórficas de bajo a moderado riesgo a la misma. Su coincidencia en un mismo perfil genético podría iniciar y mantener el proceso. Genes que codifican para hormonas y neuropeptidos que participan en el control del eje Hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA) y la vía de la Pro-opiomelanocortina (POMC), son esenciales en el control del hambre y saciedad. La Leptina es el principal mediador en ambas, ejerciendo su acción a través de la activación de su receptor. La identificación de mutaciones en cinco genes de tales vías sugiere que, tanto en ellos como en otros genes relacionados, existan también alelos de baja susceptibilidad.

Seleccionamos los SNPs K109R, R223G y K656N del gen LEPR, y 1273T/C y 255T/G del gen de CRH. Genotipamos las variantes en 69 pacientes con OM y 105 individuos control, mediante PCR y digestión o sondas Taqman. Aplicamos la ley de Hardy-Weinberg en los resultados de cada genotipo. Calculamos las frecuencias alélicas y analizamos la diversidad haplotípica, comparándolas entre pacientes y controles usando el test de la Chi cuadrado. Utilizamos métodos de regresión logística para asociar características clínicas con perfiles genéticos. Todos los genotipos se ajustaban al equilibrio de Hardy-Weinberg en controles. Encontramos que los genotipos G233G y N656N del gen LEPR aparecían más frecuentemente entre pacientes, con OR de 2.19 y 1.98 respectivamente. El análisis de su diversidad haplotípica reveló que la combinación 223G/656N aumentaba del 8% al 13.6% entre los pacientes, y

la combinación 223R/656K descendía del 40% al 31% entre los mismos.

La distribución de los haplotipos del gen CRH reveló un incremento del riesgo a padecer OM de 2.62, para los individuos portadores de al menos una combinación 1273C/255T (IC95% 0.93-7.4) y un mayor riesgo para el haplotipo más infrecuente, 1273C/255G.

Encontramos entre pacientes una representación de los haplotipos de riesgo identificados del 42.5%, frente al 18% entre controles.

El haplotipo 223G/656N del gen LEPR genera un riesgo de 1.52 a padecer OM en nuestra población. Con una frecuencia similar a la nuestra en EEUU aparece con un 4% en etnias asiáticas, donde encontramos las prevalencias más bajas de OM. La combinación 223R/656K protege de la enfermedad (OR: 0,70; IC95% 0,4-1,1), siendo curiosamente el haplotipo más común (62%) en etnias Asiáticas.

Los haplotipos 1273C/255T y 1273C/255G del promotor del gen CRH parecen conferir riesgos moderados, sugiriendo un papel muy importante de los niveles de CRH hipotalámico en la aparición de la obesidad. Comprobamos la significación de la coincidencia de los perfiles de riesgo identificados en LEPR y CRH en casos frente a controles ($p = 0,04$), identificando un subgrupo de pacientes con una mayor carga genética.

87

LOS POLIMORFISMOS CDX-2, BSMI Y FOKI DEL GEN VDR PERMITEN DIFERENCIAR A LOS PACIENTES CELÍACOS DE SUS HERMANOS SANOS HLA IDÉNTICOS

R. González^a, A. Casado^b, G. Dorado^c, J. Peña^a, F. Sánchez^d, M.F. Rodríguez-Reynoso^d, J. Jiménez^d y J.M. Quesada^b

^aServicio de Inmunología, ^bSanyres (Grupo PRASA), Unidad de Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Reina Sofía.

^cDep. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba. ^dServicio de Gastroenterología Pediátrica, Hospital Universitario Reina Sofía

La enfermedad celíaca está asociada a determinadas moléculas HLA, considerándose que el 90-95 de los pacientes presentan el antígeno HLA-DQ2 (DQB1*02/DQA1*0501) y casi el 5% son DQ8. Sin embargo, una duda sin resolver es: ¿Por qué hermanos HLA idénticos al paciente no son celiacos?. Parece que el HLA es un factor genético de predisposición importante pero no el único. Como estos enfermos padecen alteraciones en el metabolismo del calcio nos planteamos si SNPs del gen del receptor de la vitamina D (VDR) pueden servir de marcador sobreñadido para diferenciar celiacos de sus hermanos HLA idénticos sanos. Se estudiaron 25 familias de celiacos que presentaban un hermano HLA idéntico sano, 33 celiacos sin hermanos HLA idénticos y una población control de 225 niños sanos. Se realizó tipaje HLA de 3 genes HLA-DRB1, DQB1 y DQA1 por técnicas de PCR-SSO de alta resolución a los padres y a todos los hermanos para asegurarnos que eran HLA idénticos (el HLA se hereda en bloque de padres a hijos y los sobre-cruzamientos son muy raros). De sangre se extrajo ADN genómico y por PCR alelo específica se genotiparon para cada uno de los individuos los SNPs CDX-2, BsmI y FokI del gen VDR. Los cuales han sido analizados en estudios de asociación con la densidad de la masa ósea y con enfermedades autoinmunes. Las diferencias entre las frecuencias genotípicas y alélicas para cada uno de los polimorfismos, entre hermanos celiacos (23) y normales (25), no produjeron diferencias estadísticas significativas por el bajo número de individuos. Esto mismo ocurrió al comparar la población celiaca (56) con la control (225). Sin embargo, cuando se analizaron los haplotipos, combinando los

tres polimorfismos o de dos en dos, se observó que en los hermanos celiacos no había ninguno heterocigoto para los tres polimorfismos a la vez y que en los hermanos normales había un 20% de heterocigotos triples. Cuando se compararon los haplotipos resultantes de las combinaciones de dos polimorfismos (CDX-2+BsmI, CDX-2+FokI, BsmI+FokI), siempre el porcentaje de dobles heterocigotos fue mayor en los hermanos normales (28% en todos los casos) con relación a los celiacos (4,35%, 8,7% y 17,39%, respectivamente). Esto mismo se observó cuando se comparó la población celiaca con la control. Ninguno de los 56 celiacos fue triple heterocigoto y en la población control representaban el 7,11%. En cuanto al porcentaje de dobles heterocigotos, fue mayor en la población control: 15,11, 13,78 y 23,56 % frente al 7,14, 5,36 y 12,50% para los celiacos.

Conclusiones: La heterogozidad en los tres polimorfismos estudiados del gen VDR, es un factor protector de padecer enfermedad celiaca. El estudio de estos polimorfismos en una familia permite definir qué hermanos aún teniendo genes HLA de predisposición y siendo a su vez HLA idénticos tienen más riesgo de padecer enfermedad celiaca, de aquellos que presumiblemente serán sanos.

Agradecimientos: Sanyres (Grupo PRASA) y grupo PAI CTS 413 Junta de Andalucía

88

VALOR PREDICTIVO DEL TEST AGUDO DE OCTREÓTIDO EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO A LARGO PLAZO CON ANÁLOGOS DE SOMATOSTATINA EN PACIENTES ACROMEGÁLICOS

J. Nicolau^a, M. Giménez^a, R. Casamitjana^b, G. Sesmilo^a, E. Palomera^c, M. Serra-Prat^c, M. Puig-Domingo^a e I. Halperin^a
^aServicio de Endocrinología, ^bCentre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic Barcelona. ^cUnitat de Recerca Hospital de Mataró.

El descenso de GH tras una dosis única de octreótido (TAOc) ha sido utilizado para identificar a los pacientes acromegálicos potencialmente respondedores a la terapia a largo plazo con análogos de somatostatina (AnSS). El TAOc es en una práctica frecuente a pesar de los pocos datos existentes en cuanto a su

formulación y a los criterios de predicción de eficacia del tratamiento a largo plazo con AnSS.

Objetivo: Evaluar la precisión del TAOc en la predicción de respuesta bioquímica y reducción tumoral en el tratamiento a largo plazo con AnSS en los pacientes acromegálicos de nuestro centro.

Métodos: Se estudiaron 26 pacientes (19 mujeres y 7 hombres, edad $52,6 \pm 13,1$ años) previamente no tratados con AnSS en los que se realizó un test de octreótido (100 mg s.c.) con muestreo horario para GH durante 6 horas; en 21 casos se trataba de macroadenomas y en 5 microadenomas. Se estudiaron las correlaciones del nadir de GH (GH_{nad}) con la respuesta de IGF-1 a los 3, 6 y 12 meses, a la vez que se valoró, la reducción del tamaño tumoral.

Resultados: Se objetivó un descenso medio de $75 \pm 24\%$ respecto al valor basal de GH durante el TAOc; el 84% de los pacientes mostraron un descenso $\geq 50\%$ respecto al valor basal, 11% entre 25-50%, y 4% (2 pacientes) $\leq 25\%$. El 62% de los pacientes alcanzaron un $GH_{nad} \leq 5$ ng/ml, un 15% entre 5-10 ng/ml, un 20% entre 10-25 ng/ml y un 3% > 50 ng/ml. Durante el tratamiento con AnSS (octreotido o lanreotido) a la máxima dosis efectiva, a los 12 meses el 50% de los pacientes alcanzó una IGF-1 < 500 ng/ml y un 17% alcanzó niveles < 350 ng/ml. El GH_{nad} en el TAOc se correlacionó con la disminución de los niveles de IGF-1 durante todo el seguimiento, con una significación máxima al año de tratamiento ($r_s = 0,76$, $p < 0,001$). La GH basal en los respondedores al tratamiento con AnSS (IGF-1 < 500) fue de $14,9 \pm 18,6$ ng/ml vs $45,3 \pm 31,6$ ng/ml en los no respondedores ($p = 0,008$). La formulación de perfiles pronósticos de respuesta en base al GH_{nad} mediante curvas ROC, definiendo respuesta adecuada IGF-1 < 500 , mostró un 87% de sensibilidad y un 67% de especificidad para un GH_{nad} de 6,7 ng/ml (VPP del 73% y VPN del 86%); para IGF-1 < 350 , se obtuvo una sensibilidad del 100%, una especificidad del 60% para un GH_{nad} de 3,2 ng/ml con un VPP del 33% y un VPN del 100%. Se observó una disminución del tamaño tumoral $> 25\%$ en 6/14 en los que se pudo obtener información evolutiva contrastable.

Conclusiones: 1) el TAOc permite identificar de forma razonable pacientes acromegálicos que presentan respuesta terapéutica significativa en el tratamiento a largo plazo con AnSS; 2) sólo un 50% de pacientes presentaron valores de IGF-1 aceptables al año de tratamiento, y un 43% una reducción significativa del tamaño tumoral.