

ENDOCRINOLOGÍA BÁSICA

87

ADIPONUTRINA: REGULACIÓN EN TEJIDO ADIPOSO DE RATA

C.R. González Diéguez¹, J.E. Caminos Pinzón², M.J. Vázquez Villar¹, R. Lage Fernández¹, R. Nogueiras Pozo¹, S. Tovar Carro¹ y C. Diéguez González¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña,

²Departamento de Fisiología - IGUN, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Adiponutrina es una lipasa expresada fundamentalmente en tejido adiposo. Al contrario que otras citoquinas no es secretada ya que se encuentra unida a la membrana citoplasmática. Estudios realizados hasta ahora en roedores sugieren que su expresión se encuentra regulada por cambios en el estado nutricional y en el balance energético. En humanos se ha podido correlacionar dos polimorfismos de esta proteína con la obesidad. En nuestro estudio hemos determinado la expresión de Adiponutrina durante el Desarrollo Postnatal, y así como su relación con distintos estados metabólicos como son la gestación, gestación y adiponectina, ayuno e hiperleptinemia, estado tiroideo, aumento de la sensibilidad a de insulina y deficiencia de GH. Para este estudio, hemos utilizado Tejido Adiposo gonadal de ratas machos y hembras de la raza Sprague-Dawley y de ratas deficientes en Hormona de Crecimiento (Dwarf). Para la cuantificación del ARNm de Adiponutrina utilizamos la RT-PCR en tiempo-real.

Los resultados nos revelan que el patrón de expresión de Adiponutrina en los distintos estadios de edad, muestran un patrón ascendente, tanto en machos como en hembras, siendo las diferencias significativas entre los niveles del día 60 y los del día 90 en machos ($p < 0,05$). En hembras también presentan diferencias significativas entre 21 días y 60 y 90 días ($p < 0,05$). En el ayuno los niveles bajan y no son revertidos con Leptina. Al mejorar la sensibilidad a insulina con un tratamiento con metformina, los niveles descienden tras 2 semanas de tratamiento ($p < 0,05$). El hipotiroidismo produce un aumento de Adiponutrina en el Tejido Adiposo ($p < 0,01$). Durante la gestación, no existen apenas cambios a excepción de los 16 días de gestación donde se alcanzan los niveles máximos ($p < 0,05$). El tratamiento con Adiponectina durante una semana (2,5 µg/día) no produce cambios pero si en ratas preñadas (días 13 a 20 de gestación), donde su administración incrementa de forma significativa los niveles. Finalmente en déficit de Hormona de Crecimiento (ratas Dwarf), los niveles están muy disminuidos ($p < 0,01$).

88

ANTAGONISMO DE LAS RESPUESTAS AL ONCOGEN RAS POR EL RECEPTOR DE HORMONAS TIROIDEAS TRB: VÍAS DE SEÑALIZACIÓN Y DOMINIOS IMPLICADOS

O.A. Martínez-Iglesias, S. García-Silva y Aranda Ana García-Silva

Instituto de Investigaciones Biomédicas alberto Sols. Madrid.

Tanto la hormona tiroidea (T3) como el oncogen *ras* juegan un papel muy importante en procesos de desarrollo, proliferación y diferenciación. Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que la expresión de TRb inhibe la transcripción, pro-

liferación, transformación y tumorigénesis mediada por el oncogen *ras* y que el gen de la ciclina D1 parece ser una diana importante para los efectos antiproliferativos y anti-transformantes del receptor.

En las células de hepatocarcinoma humano transfectadas de manera transitoria con TRb, hemos observado que el tratamiento con T3 revierte la estimulación del promotor de ciclina D1 por *ras*. Mediante transfecciones transitorias con mutantes en los distintos sitios de unión del promotor de ciclina D1 comprobamos que tanto el sitio CRE como Sp1 son necesarios para la estimulación completa por el oncogen. Estos resultados se corroboraron transfectando mutantes con actividad dominante negativa para los factores ATF-2 y Sp-1. Mediante ensayos de tipo "un híbrido" con la construcción GAL-ATF-2 comprobamos que el oncogen *ras* estimulaba la actividad de ATF-2, que se une a sitios CRE, y que el tratamiento con T3 produce la reversión de este efecto. La quinasa MSK fosforila y activa a los factores de transcripción ATF-2. Por ello analizamos la importancia de esta quinasa en la activación del promotor por el oncogen, así como en la transrepresión causada por T3, observando que la inactivación de MSK, mediante la transfección de mutantes con actividad dominante negativa o el tratamiento con los inhibidores sintéticos de MSK, producía la inhibición de la activación por el oncogen y bloqueaba el efecto de la hormona.

Para caracterizar los dominios del TRb implicados en este proceso generamos mutantes puntuales en los distintos dominios del receptor. De esta manera comprobamos que se requiere tanto la integridad del dominio de unión a DNA (DBD) como de la hélice 1 del dominio de unión al ligando (LBD), en la que se localiza la caja CoR y que es importante en el reclutamiento de correpresores. Por el contrario mutaciones que afectan a la interacción con coactivadores no bloquean el efecto de la hormona. Por tanto, en este proceso juegan un papel importante dominios del TRb que son diferentes a los implicados en la regulación transcripcional clásica que implican unión del receptor a un elemento de respuesta en el DNA y el reclutamiento de coactivadores. La T3 también inhibe la transformación de fibroblastos murinos NIH3T3 por Ras. Al caracterizar los dominios del receptor implicados en este proceso comprobamos que en este caso también es imprescindible la integridad del DBD y de la hélice 1 del LBD. Por el contrario mutaciones que afectan a la interacción con coactivadores no impiden el efecto de la T3. El paralelismo observado entre los efectos anti-transformantes y los efectos antagonistas de la transcripción del gen de ciclina D1, confirman que los mecanismos de transrepresión transcripcional son fundamentales en la represión del efecto del oncogen Ras por TRb.

89

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES RESPIRATORIAS EN PACIENTES CON ACROMEGALIA

S. Martínez¹, B. Amat², A. Candela², P. Revert¹, N. Arias¹, V. González¹, O. Moreno¹ y A. Picó¹

¹S. Neumología y ²S. Endocrinología del Hospital General Universitario de Alicante.

Introducción: En la acromegalia el exceso de hormona de crecimiento (GH) conduce al crecimiento de tejidos, mediado por la actividad de la IGF1, entre ellos el parénquima pulmonar. Debido a ello se producen cambios estructurales en el tracto

	ACR (N: 26)		Control(N: 19)			ACRa (10)		ACRna (16)		
	MEDIA	DE	MEDIA	DE	p	MEDIA	DE	MEDIA	DE	p
Hombres(%)	12(55)		10(45)		0,67	5(42)		7(58)		0,76
Edad(años)	51	12	53	13	0,66	47		54		0,16
Peso(Kg)	83	18	87	19	0,55	86,5	21,2	81,5	15,2	0,48
Talla(m)	1,66	0,80	1,64	0,84	0,65	1,65	0,09	1,67	0,07	0,70
IMC(Kg/m)	30	4,59	32	6,73	0,33	31,23	4,92	29,23	4,35	0,31
PH	7,43	0,25	7,41	0,13	0,001	7,43	0,02	7,43	0,03	0,71
PO ₂	86,6	14,8	82,7	11,5	0,35	89,6	19,3	84,8	11,5	0,43
PCO ₂	40,7	3,9	42	8,3	0,47	41,08	4,19	40,44	3,79	0,69
FVC (%)	115	24	105	18	0,12	120	24	112	24	0,43
FEV1(%)	108	22	99	22	0,17	110	23	107	23	0,73
FEV1/FVC(ml)	99	7,5	97	12	0,36	96	5	102	8	0,06
TLC(%)	107	20	96	13	0,03	107	24	107	18	0,99
RV(%)	95	37	91	37	0,76	95	29	95	43	0,99
RV/TLC(%)	89	21	93	32	0,58	86	18	91	23	0,56
DLCO(%)	89	19	88	21	0,86	82	14	93	21	0,14
DLCO/VA(%)	63	14	76	16	0,007	59	12	66	15	0,25
PO ₁	0,31	0,12	0,41	0,18	0,03	0,30	0,11	0,31	0,14	0,79
PIM(%)	89	28	93	32	0,64	88	24	90	31	0,88
PEM(%)	71	23	57	15	0,03	63	26	76	19	0,19

ACRa: acromegalia activa; ACR na: acromegalia no activa.

respiratorio con alteraciones funcionales secundarias que son causa de morbi- mortalidad.

Objetivo: Estudiar en una muestra de pacientes acromegálicos, los parámetros funcionales respiratorios y comparar dichos parámetros con un grupo control. Estimar si las alteraciones en el patrón funcional respiratorio se correlacionan con la actividad clínica de la enfermedad.

Material y métodos: Estudio prospectivo de pacientes acromegálicos controlados por el servicio de Endocrinología del H.G.U.A. A todos los pacientes se les realizó exploración funcional respiratoria (espirometría, pletismografía) y gasometría arterial basal. La selección de los controles se realizó entre pacientes con características antropométricas análogas, que eran remitidos al servicio de neumología por sospecha de síndrome de apnea del sueño. El análisis estadístico se realizó mediante el programa informático SPSS 9.0 y se consideró como estadísticamente significativo una $p < 0,05$.

Resultados: Se incluyeron 45 pacientes, 26 acromegálicos y 19 controles. Los resultados se expresan en la tabla.

Conclusiones: En los pacientes con acromegalia se objetiva un aumento de los volúmenes pulmonares (TLC, DLCO, PEM) respecto al grupo control, como probable expresión de crecimiento del tejido pulmonar. Este incremento no parece estar relacionado con la actividad clínica de la enfermedad.

90

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES RESPIRATORIAS EN PACIENTES CON ACROMEGALIA

S. Martínez², B. Amat¹, A. Candela¹, P. Revert², N. Arias², V. González², O. Moreno², A. Picó²

¹S. Neumología y ²S. Endocrinología del Hospital General Universitario de Alicante.

Introducción: En la acromegalia el exceso de GH conduce al crecimiento de tejidos, mediado por la actividad de la IGF1, entre ellos el parénquima pulmonar. Debido a ello se producen cambios estructurales en el tracto respiratorio con alteraciones funcionales secundarias que son causa de morbi- mortalidad.

Objetivo: Estudiar en una muestra de pacientes acromegálicos, los parámetros funcionales respiratorios y comparar dichos parámetros con un grupo control. Estimar si las alteraciones en el patrón funcional respiratorio se correlacionan con la actividad clínica de la enfermedad.

Material y métodos: Estudio prospectivo de pacientes acromegálicos controlados por el servicio de Endocrinología del H.G.U.A. A todos los pacientes se les realizó exploración funcional respiratoria (espirometría, pletismografía) y gasometría

	ACR (N: 26)		Control(N: 19)			ACRa (10)		ACRna (16)		
	MEDIA	DE	MEDIA	DE	p	MEDIA	DE	MEDIA	DE	p
Hombres(%)	12(55)		10(45)		0,67	5(42)		7(58)		0,76
Edad(años)	51	12	53	13	0,66	47	11	54	12	0,16
IMC(Kg/m)	30	4,59	32	6,73	0,33	31,23	4,92	29,23	4,35	0,31
PH	7,43	0,25	7,41	0,13	0,001	7,43	0,02	7,43	0,03	0,71
PO ₂	86,6	14,8	82,7	11,5	0,35	89,6	19,3	84,8	11,5	0,43
PCO ₂	40,7	3,9	42	8,3	0,47	41,08	4,19	40,44	3,79	0,69
FVC (%)	115	24	105	18	0,12	120	24	112	24	0,43
FEV1(%)	108	22	99	22	0,17	110	23	107	23	0,73
FEV1/FVC(ml)	99	7,5	97	12	0,36	96	5	102	8	0,06
TLC(%)	107	20	96	13	0,03	107	24	107	18	0,99
RV(%)	95	37	91	37	0,76	95	29	95	43	0,99
DLCO(%)	89	19	88	21	0,86	82	14	93	21	0,14
PIM(%)	89	28	93	32	0,64	88	24	90	31	0,88
PEM(%)	71	23	57	15	0,03	63	26	76	19	0,19

ACRa: acromegalia activa; ACR na: acromegalia no activa.

arterial basal. La selección de los controles se realizó entre pacientes con características antropométricas análogas, que eran remitidos al servicio de neumología por sospecha de síndrome de apnea del sueño. El análisis estadístico se realizó mediante el programa informático SPSS 9,0 y se consideró como estadísticamente significativo una $p < 0,05$.

Resultados: Se incluyeron 45 pacientes, 26 acromegálicos y 19 controles. Los resultados se expresan en la tabla. Ver tabla página anterior.

Conclusiones: En los pacientes con acromegalia se objetiva un aumento de los volúmenes pulmonares (TLC, DLCO, PEM) respecto al grupo control, como probable expresión de crecimiento del tejido pulmonar. Este incremento no parece estar relacionado con la actividad clínica de la enfermedad.

91

CARACTERÍSTICAS POLISOMNOGRÁFICAS DE PACIENTES CON ACROMEGALIA. CORRELACIÓN CON ACTIVIDAD CLÍNICA

S. Martínez¹, B. Amat², P. Revert¹, N. Arias¹, V. González¹, O. Moreno¹ y A. Picó¹

¹Servicio de Endocrinología y ²Neumología del Hospital General Universitario de Alicante.

Justificación y objetivo: La acromegalia se relaciona frecuentemente con el síndrome de apnea-hipopnea del sueño (SAHS), que tiene repercusión sobre la morbilidad cardiovascular. El propósito de este estudio es conocer las características del sueño en los pacientes con acromegalia y su correlación con la actividad clínica.

Material y métodos: Estudio observacional, descriptivo y transversal. Población a estudio: pacientes acromegálicos en seguimiento por el departamento de Endocrinología, a los que se realiza Polisomnografía nocturna. El análisis estadístico ha sido realizado con SPSS 9.0. y el análisis comparativo entre las variables cuantitativas con la t-Student. Grado de significación ($p < 0,05$).

Resultados: 26 pacientes (14 mujeres), edad media: 51 (EE $\pm$ 2,3) años, IMC de 30 (EE $\pm$ 0,9) Kg/m². El 73% son roncadores habituales, un 46% apneas observadas durante el sueño, un 7,7% presentan cefaleas matutinas, el 38% tiene síntomas neuropsicológicos relacionados con mal descanso nocturno. En la siguiente tabla comparamos las características del sueño de los enfermos con y sin actividad clínica:

	Activa	no activa	(p)
RONQUIDOS	80%	69%	0,668
Apneas observadas	70%	31%	0,105
E, Epworth	9,5 $\pm$ 3,5	7,6 $\pm$ 4,3	0,265
Eficiencia sueño	82 $\pm$ 23	83 $\pm$ 15,7	0,918
Sueño superficial	60% $\pm$ 19	66% $\pm$ 16,5	0,383
Sueño profundo	26% $\pm$ 14,5	21% $\pm$ 13,8	0,428
Sueño REM	14% $\pm$ 7,9	13% $\pm$ 8,7	0,838
IAH	34 $\pm$ 35,6	32 $\pm$ 26,7	0,869
IA	21 $\pm$ 31,6	15 $\pm$ 17,5	0,605
IAC	2 $\pm$ 5	2 $\pm$ 2,11	0,692
IAM	9 $\pm$ 20,5	3 $\pm$ 5,58	0,185
IAO	10 $\pm$ 14,6	10 $\pm$ 15,8	0,691
IH	13 $\pm$ 18	17 $\pm$ 14,3	0,498

Media $\pm$ DE. (IAH: índice apnea/hipopnea, IA: índice apnea, IAC: índice apneas centrales, IAM: índice apneas mixtas, IAO: índice apneas obstructivas, IH: índice hipopnea).

De los 26 pacientes de la muestra, el 69% presenta un IAH ≥ 10 , de los que un 33% están activos (p : 0,664).

Conclusiones: Los pacientes acromegálicos con enfermedad

activa presentan un peor patrón polisomnográfico, con mayor IAH y mayor número de apneas mixtas. No existen diferencias respecto a las apneas centrales u obstructivas.

92

CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS POR HEY1, UN MEDIADOR DE SEÑALES NOTCH

M.A. Villaronga y B. Belandia

Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols. Madrid.

Los andrógenos juegan un papel central en el control de muchos procesos fisiológicos, especialmente en órganos masculinos. Los andrógenos regulan la proliferación de las células del epitelio de la próstata y alteraciones en las rutas de señalización dependientes de andrógenos contribuyen al desarrollo del carcinoma de próstata. Las acciones biológicas de los andrógenos están mediadas por el receptor de andrógenos (AR), un miembro de la superfamilia de receptores nucleares. La capacidad del receptor de andrógenos de regular la expresión de genes que responden a andrógenos depende del reclutamiento de otros co-factores transcripcionales. Hey1 es un miembro de la familia de represores transcripcionales bHLH-Orange, que media la señalización por Notch. Nosotros hemos demostrado que la actividad transcripcional del receptor de andrógenos es inhibida por Hey1 y además la expresión de formas constitutivamente activas de Notch reprime la transactivación mediada por el receptor de andrógenos endógeno. Nuestros resultados indican que Hey1 funciona como un co-represor para AR en el receptor de andrógenos, proporcionando un mecanismo de comunicación entre Notch y las rutas de señalización dependientes de andrógenos. Hey1 también interacciona con el co-activador SRC1 y suprime sus efectos positivos sobre la actividad del AR. Hey1 y el receptor de andrógenos co-localizan en el epitelio prostático en pacientes con hipertrofia prostática benigna, donde se encuentran en el citoplasma y en el núcleo. Sin embargo, en la mayoría de los pacientes con cáncer de próstata, Hey1 se encuentra excluido del núcleo. Este resultado sugiere que alteraciones en la localización subcelular de Hey1 pudieran estar implicadas en las respuestas anormales a andrógenos que ocurren en cánceres de próstata. Actualmente estamos caracterizando los mecanismos moleculares que regulan la localización subcelular de Hey1 y también estamos estudiando como afectan polimorfismos en el gen Hey1 humano a su capacidad de regular la actividad transcripcional del AR.

93

EL HIPOTIROISMO PRODUCE UN AUMENTO DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE MIOSTATINA EN LA RATA

I. Carneiro¹, I. Castro¹, A. Muñoz², J.L. Labandeira-García², J. Devesa¹ y V.M. Arce¹

¹Departamento de Fisiología, ²Departamento de Ciencias Morfológicas. Universidade de Santiago de Compostela.

La miostatina (MSTN) es un factor de crecimiento y diferenciación perteneciente a la superfamilia del TGF- β , que desempeña un papel fundamental en el control la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células musculares esqueléticas. La MSTN se expresa de forma casi exclu-

siva en el músculo esquelético donde actúa de forma autocrina/paracrina inhibiendo su desarrollo. Sin embargo, aunque está clara la importancia de la MSTN en la regulación del desarrollo muscular en el embrión y, en menor medida, durante el período de crecimiento, su función en el adulto no ha sido tan claramente establecida. Se ha propuesto que, una vez que el músculo se ha formado, el papel de la MSTN consistiría en mantener en estado latente la población de células satélite encargadas de la renovación del tejido muscular, impidiendo su activación y, en este sentido, se ha relacionado el aumento de la expresión de MSTN con la atrofia muscular que se produce en determinados procesos como situaciones de inmovilidad prolongada, infecciones por VIH o tratamiento con glucocorticoides. Dado que en el promotor del gen de la MSTN existen elementos de respuesta a hormonas tiroideas (HTs), y el hipotiroidismo puede inducir pérdida de masa muscular, el objetivo del presente estudio fue analizar la existencia de cambios en la expresión de MSTN en ratas hipotiroideas. Para provocar el estado de hipotiroidismo se trataron los animales con AMT durante 3, 8, 14 o 28 días. Para confirmar la eficiencia del tratamiento, se siguió la evolución de la masa corporal y se analizaron los niveles de HTs. El tratamiento con AMT produjo, en relación a los controles, una disminución de los niveles circulantes de T_3 ($0,48 \pm 0,32$ vs. $1,4 \pm 0,07$ pmol/ml, $p < 0,01$), de la ganancia de masa corporal ($27,7 \pm 5,7$ g vs. $151,5 \pm 7,5$ g; $p < 0,01$) y de la masa del músculo solear (150 ± 1 mg vs. 180 ± 1 mg, $p < 0,01$). Los niveles de MSTN también se vieron afectados por el tratamiento, encontrándose, a partir del día 14, un aumento de los niveles de MSTN, tanto de ARNm como de proteína. El hipotiroidismo produjo también un significativo descenso de la actividad locomotora nocturna (evaluado con un sistema automático de filmación en la oscuridad, *Videomex-X motion analyzer*) en relación con los animales control ($p < 0,05$). Por el contrario, el tratamiento con T_3 no modificó los niveles de expresión de MSTN *in vitro*, aunque sí estimuló la fusión celular y la expresión de MyoD. En conclusión, nuestros resultados indican que el hipotiroidismo está asociado a un aumento de los niveles de expresión de MSTN que podrían ser, al menos en parte, responsables de la pérdida de masa muscular que puede producirse en esta situación. Sin embargo, el hecho de que las hormonas tiroideas no ejerzan ningún efecto sobre la transcripción del gen de MSTN *in vitro* sugiere que estos cambios son ejercidos a través de un mecanismo indirecto.

94

PREVIENE EL TRATAMIENTO CON EL RECEPTOR SOLUBLE DEL TNF- LA DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LH Y TESTOSTERONA PERO NO EL AUMENTO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ACTH Y CORTICOSTERONA EN LA ARTRITIS EXPERIMENTAL

M. Granado, A.I. Martín, M. López-Menduiña, E. Castellero, A. López-Calderón y M.A. Villanúa

La artritis experimental es un modelo animal de inflamación crónica que cursa con hipermetabolismo, con una activación del eje adrenal y con una inhibición del eje gonadal. El TNF- α es una citoquina inflamatoria relacionada con la patogénesis de la enfermedad ya que se encuentra aumentada tanto en el suero como en las articulaciones de pacientes con artritis reumatoide. El objetivo de este trabajo fue determinar si el TNF- α media la activación del eje ACTH-corticosterona y la inhibición del eje LH-testosterona en la ar-

tritis inducida por la administración de adyuvante. La artritis se indujo a ratas macho de la cepa Wistar mediante la inyección de adyuvante completo de Freund en la superficie plantar de la pata derecha. Quince días tras la administración del adyuvante los animales controles y los artríticos se dividieron en dos grupos experimentales: un grupo inyectado con solución salina s.c. durante 8 días, y otro inyectado con 1 mg/kg s.c. del compuesto PEG-sTNFR1, receptor soluble p55 del TNF conjugado con polietilenglicol. El tratamiento con el PEGsTNFR1 disminuyó el índice de artritis y el volumen del pie de los animales artríticos ($P < 0,01$). La artritis disminuyó la ganancia de peso corporal ($P < 0,01$), las concentraciones séricas de LH ($P < 0,05$) y testosterona ($P < 0,05$) y aumentó los niveles séricos de ACTH ($P < 0,01$) y corticosterona ($P < 0,05$). El tratamiento con el compuesto anti-TNF- α , PEGsTNFR1 atenuó la disminución en la ganancia de peso corporal en los animales artríticos ($P < 0,01$) y no tuvo ningún efecto sobre las concentraciones séricas ni de ACTH ni de corticosterona. Sin embargo, la administración de este compuesto previno totalmente la disminución en los niveles séricos de LH en las ratas artríticas ($P < 0,01$) y aumentó las concentraciones de testosterona en el suero tanto de los animales control ($P < 0,05$), como de los artríticos ($P < 0,05$). Estos resultados indican que el TNF- α no media la activación del eje adrenal en la artritis experimental, pero sí la inhibición de la LH y la testosterona en este modelo de inflamación crónica.

Este trabajo ha sido financiado por una CICYT (BFI 2003-02/49), por una beca FPU del Ministerio de Educación y Ciencia a Miriam Granado (AP2003-2564) y por una beca del Gobierno Vasco a Estibaliz Castellero (BFI 06,31).

95

ENFERMEDAD AUTOIMUNITARIA TIROIDEA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS C TRATADOS CON INTERFERÓN ALFA. CÉLULAS T REGULADORAS.RESULTADOS PRELIMINARES

B. Soldevila¹, N. Alonso¹, I. Salinas¹, R. Planas², M.L. Granada³, M.J. Martínez⁴, D. Baía⁴, E.M. Martínez Cáceres⁴ y A. Sanmartí¹

¹Servicios de Endocrinología y Nutrición, ²Digestivo, ³Análisis Clínicos (Laboratorio Hormonal), ⁴Inmunología (BST-LIRAD). Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona Barcelona.

Introducción: Las causas de la enfermedad autoinmunitaria tiroidea (EAT) son desconocidas y se han relacionado con la alteración de los mecanismos inmunológicos de tolerancia periférica. Entre estos mecanismos destaca la alteración del equilibrio de citocinas pro y antiinflamatorias y/o de la subpoblación de los linfocitos T reguladores (Treg). Entre los desencadenantes conocidos de EAT está el tratamiento con interferón alfa (IFN- α).

Objetivos: 1) Valorar la incidencia y tipo de EAT en pacientes tratados con IFN- α por infección por virus hepatitis C (VHC); 2) Determinar si existe una relación entre citocinas y/o los Treg y la aparición de EAT.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de 38 pacientes afectados de infección por VHC tratados con IFN- α durante 6-12 meses, en función del genotipo viral. A todos ellos se les analizó al inicio y mensualmente hasta finalizar el tratamiento: 1) tirotropina (TSH), tiroxina libre (T4L) y triiodotironina (T3); 2) anticuerpos antiperoxidasa (aTPO), antitiroglobulina (aTg) y anti-receptor de la TSH. En aquellos pacientes que desarrollaron EAT (grupo A), de modo retrospectivo, se determinaron además: 1) interleucina

(IL) 1 alfa (IL1-A), IL 1 beta (IL1-B), IL-2, IL-6, IL-8, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-A), IL-4, IL-10 y MCP-1; 2) porcentaje de células Treg (marcadores: CD4/Foxp3/CD127low/CD25). El resultado se comparó con el obtenido en un grupo de pacientes que siguieron el mismo tratamiento y no desarrolló EAT (grupo B), apareados por edad y sexo.

Resultados: El 15,7% (6/38) de los pacientes con VHC desarrolló EAT durante el tratamiento con IFN-a: 2 pacientes sólo positivizaron los anticuerpos, 3 desarrollaron tiroiditis destructiva y uno hipotiroidismo. No se observaron diferencias en las concentraciones séricas de citocinas entre el grupo A y el grupo B antes de iniciar el tratamiento. La MCP-1 incrementó significativamente en ambos grupos durante el tratamiento (basal vs final: 224,10 pg/mL vs 300,20 pg/mL; $p = 0,03$). Los pacientes con EAT presentaron un aumento de la subpoblación CD4⁺Foxp3⁺CD127^{low}CD25^{high} en el momento de su aparición ($p = ns$).

Conclusiones: El tratamiento con IFN-a en los pacientes con VHC induce un incremento significativo del MCP-1. En el momento de la aparición de EAT se ha detectado un incremento de la subpoblación CD4⁺Foxp3⁺CD127^{low}CD25^{high} que podría estar relacionado con la existencia de un mecanismo compensatorio del proceso autoinmunitario tiroideo.

96

ESTRUCTURA DEL CEREBRO Y EXPRESIÓN GÉNICA EN RATONES MUTANTES NULOS DEL TRANSPORTADOR DE HORMONA TIROIDEA MCT8

A. Ceballos¹, E. Sánchez¹, B. Morte^{1,2}, S. Refetoff^{2,3} y J. Bernal^{1,2}

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" (C.S.I.C.) Madrid, ²Centro de investigación biomédica en red de enfermedades raras (CIBERER) Instituto de salud Carlos III, ³Universidad de Chicago.

Introducción: Las hormonas tiroideas, tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), son indispensables para el correcto desarrollo y función del cerebro. La T4 y T3 se sintetizan en el tiroides y alcanzan el cerebro a través de unos transportadores como el OATP y el MCT8 que se encuentran en la barrera hematoencefálica y en los plexos coroideos. En los astrocitos se produce el paso de desyodación de la T4 a la forma activa T3 y ésta entra mayoritariamente en la neurona por el transportador MCT8. La T3 se une a sus receptores nucleares que son factores de transcripción dependientes de ligando y produce cambios en la expresión génica. Recientemente se ha descubierto que las mutaciones del transportador MCT8 producen un síndrome de afectación neurológica severa con un profundo retraso psicomotor ligado al cromosoma X, junto a un perfil inusual de hormonas tiroideas circulantes (aumento de la concentración de T3 circulante, T4 y rT3 baja y TSH ligeramente elevada). Los niños afectados de esta enfermedad presentan una alteración profunda del desarrollo cognitivo, con incapacidad para hablar y una alteración motora grave. Además, se ha descrito esta mutación en el llamado síndrome de Allan-Herndon-Dudley. El síndrome neurológico guarda cierta semejanza con patologías tiroideas como el cretinismo neurológico, debido a una falta de hormona durante la primera mitad de la gestación y podría deberse a una entrada deficiente de T3 a las neuronas durante alguna etapa crítica del desarrollo fetal, pero no se sabe el momento del desarrollo, ni la estructura neuronal donde se localiza la lesión primaria. Tampoco se descarta que el MCT8 transporte otro metabolito importante para el metabolismo neuronal. El objeti-

vo principal de este estudio es conocer si la falta de aporte de T3 a las neuronas, es la causante del síndrome neurológico. Para ello, contamos con ratones Knock-out para MCT8 en los que se analizó a nivel de cerebelo si existían anomalías típicas del hipotiroidismo. El estudio mediante Nissl e inmunohistoquímica de calbindina y GFAP, no reveló un retraso en la migración de las células de la capa granular externa, ni en la diferenciación de las células Purkinje, ni en el desarrollo de astrocitos. En el estudio en dichos animales, de genes regulados por hormona tiroidea como RC3 y hairless, tampoco se encontró ninguna alteración.

Sin embargo, estos ratones presentan un incremento de la actividad desyodasa II (D2) debido a la disminución de T4, pero sin cambios a nivel de mRNA. Aunque el incremento de la actividad D2 es típico de hipotiroidismo, la expresión de genes diana de T3 es normal, lo que sugiere compensación.

97

ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LA GHRELINA Y SU RECEPTOR (GHS-R1A) MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR CON CÉLULAS VIVAS

C.JP Álvarez¹, M. Martín-Pastor², A. De Capua², F.F. Casanueva^{1,3} y Y. Pazos³

¹Laboratorio de Endocrinología Molecular y Celular. Departamento de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela. ²Laboratorio Integral de Dinámica y Estructura de Biomoléculas José R. Carracido. Unidad de Resonancia Magnética, RIAIDT, Universidad de Santiago de Compostela. ³Área de Investigación. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

La ghrelina es un péptido de 28 aminoácidos con un ácido *n*-octanoico en la serina 3. Esta nueva hormona actúa como ligando endógeno del receptor de secretagogos de hormona de crecimiento GHS-R1a, regulando no sólo la secreción de GH sino también la ingesta.

Los estudios previos realizados mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y otras técnicas nos dan información estructural sobre la ghrelina en disolución, pero no ofrecen datos sobre su conformación bioactiva, ni del modo de interacción con el receptor GHS-R1a.

En este trabajo se han evaluado las interacciones del péptido ghrelina y su análogo desacilado, desacil-ghrelina, con el receptor GHS-R1a mediante técnicas de RMN en presencia de células vivas en el tubo de muestra. Se utilizaron dos líneas celulares diferentes (CHO y HEK) y con cada una se compararon los espectros obtenidos con células transfectadas de forma estable con el GHS-R1a y su respectiva línea *wild type*, en presencia de ghrelina o desacil-ghrelina. Las diferencias observadas probaron la interacción específica de la ghrelina con su receptor, realizándose un mapa de las interacciones encontradas que difiere significativamente del obtenido para su análogo desacil-ghrelina. Concretamente, se producen cambios en las señales del grupo *n*-octanoilo que confirman que este grupo es crucial para la interacción con el receptor.

Los resultados prueban que los estudios de RMN con células vivas que presentan el receptor de interés, son útiles para el estudio de interacciones ligando-receptor como las que se dan entre la ghrelina o la desacil-ghrelina con el GHS-R1a, y reflejan de forma fidedigna las interacciones funcionales de estos péptidos.

EXPRESIÓN DEL RECEPTOR GFR α 2 EN HIPOFISIS DE RATA

M. García-Lavandeira, C. Diéguez y C.V. Álvarez

Dpto. de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela.

El sistema GFR α /GDNF hace gala de una amplia distribución en tejidos de muy diversa naturaleza, como puede ser el sistema nervioso, los riñones, intestino, testículo, etc. A pesar de su amplio espectro de acción, destacan la supervivencia o la diferenciación celular como sus funciones más significativas. Nuestro equipo ha sido el primero en determinar la existencia del sistema GDNF/RET/ GFR α en la adenohipofisis de ratas embrionarias y adultas, así como en la adenohipofisis humana (Urbano et al., 2000).

El receptor GFR α 2 es una glicoproteína de membrana anclada extracelularmente por un enlace GPI (glicosilfosfatidilinositol) que pertenece a la familia de receptores alpha GDNF y aunque son estructuralmente similares, cada receptor GFR α protagoniza interacciones específicas con diferentes miembros de la familia GDNF. Su función es la unión específica a cada ligando siendo Neurturina el ligando específico para GFR α 2 (Sanicola et al. 1999). En nuestro estudio nos proponemos determinar la expresión del receptor GFR α 2 tanto a nivel de mRNA como de proteína en adenohipofisis de ratas lactantes y adultas.

Para comprobar la expresión del receptor GFR α 2 se realizó el estudio de la proteína mediante Western-blot. Se utilizaron adenohipofisis congelados a -80°C, tanto de ratas lactantes como adultas.

Debido a que el receptor GFR α 2 presenta una baja expresión de los mRNA la detección se realizó utilizando la técnica de RT-PCR (Real Time PCR) ya que presenta una mayor sensibilidad que la PCR común. La extracción de mRNA de adenohipofisis congeladas a -80 °C, tanto de ratas lactantes como adultas, se realizó mediante el RNeasy Mini Kit (Quiagen) ya que la eficiencia de extracción de mRNA es crucial para las sucesivas amplificaciones por RT-PCR.

Con nuestro estudio demostramos la existencia del receptor GFR α 2 en adenohipofisis de ratas lactantes y adultas. A nivel de proteína, determinamos la existencia de una banda de 55 KDa. tanto en ratas lactantes como adultas gracias a la utilización de anticuerpos específicos. Además a nivel mRNA, se observó mediante RT-PCR cuantitativa una expresión significativamente mayor ($p \leq 0,01$) de GFR α 2 en ratas lactantes con respecto a las ratas adultas.

HIPERGLUCEMIA COMO PRIMERA MANIFESTACIÓN DE UN FEOCROMOCITOMA

M. de la O Cabanillas, M.D Avilés, V. Luna, J.A Lucas, J. Díaz, F. Morales, P. Beato, L.J Fernández, L.M Luengo y R. Hernández

Paciente de 25 años ingresada en nuestro servicio por hiperglucemia (327 mg/dl a su llegada a urgencias), con sospecha diagnóstica de debut de diabetes mellitus. Acompañan al cuadro náuseas, vómitos de contenido alimentario y cefalea.

La paciente contaba episodios de migraña sin aura y psoriasis desde los 12 años de edad, habitualmente en tratamiento con metilprednisolona tópica. El año anterior había sido valorada por Cardiología por palpitaciones, aisladas o sostenidas, de du-

ración breve, sin encontrarse evidencia de cardiopatía orgánica. Los estudios analíticos previos eran normales y no refería clínica cardinal de diabetes.

En las primeras 24 horas del ingreso el cuadro inicial parece resuelto y los valores de glucemia se normalizan sin necesidad de administrar insulina. Otras alteraciones analíticas presentes en urgencias, tales como leucocitosis de 22.500 con desviación izquierda, hiperamilasemia leve y ligera elevación de creatinina plasmática, también retornan a límites normales. La Hb A1C y Péptido C se encuentran en rangos de normalidad.

Debido a la sorprendente mejoría del cuadro, especialmente de los niveles de glucemia, así como a la asociación de síntomas sugestivos de descarga adrenérgica (palpitaciones, cefalea y temblor e hipertensión aislada), se solicitan niveles de catecolaminas y metanefrinas en orina, con los siguientes resultados: Catecolaminas en orina: ligeramente elevadas. Metanefrinas en orina: totales 4698; normetanefrina 1653; metanefrina 3045.

Ante la sospecha clínica y analítica de feocromocitoma, se solicita TC de abdomen que pone de manifiesto la presencia de una masa en suprarrenal izquierda de 58 mm, de bordes nítidos y que capta contraste de forma heterogénea. La MR suprarrenal muestra también una tumoración en suprarrenal izquierda de 55 mm, bien definida, hiperintensa y algo heterogénea en T2, compatible con feocromocitoma. La MIBG revela un acúmulo focal intenso en la localización teórica de la suprarrenal izquierda, hallazgo compatible con la sospecha de feocromocitoma en esa localización.

Otros estudios hormonales (TSH, FT4, PTHi) y de autoinmunidad (anti-GAD, IA2, ICAs, AAI) fueron normales. A los tres meses del diagnóstico se realiza suprarrenalectomía izquierda, previo bloqueo alfa-adrenérgico, siendo también necesaria la administración de beta-bloqueantes por taquicardia refleja mal tolerada. En la actualidad la paciente mantiene buen control de TA y sin nuevos episodios como los que motivaron su ingreso. Llama la atención del caso la presencia de hiperglucemia aislada como primera manifestación patológica que motiva el inicio del estudio de la paciente, en principio enfocado hacia el diagnóstico de debut diabético. Sólo la monitorización de las glucemias, siempre normales, y la ausencia de otros datos de insulinoopenia, nos obligan a indagar acerca de la presencia de otros síntomas y signos en busca de nuevas hipótesis diagnósticas.

HIPOCALCEMIA SEVERA EN EMBARAZO Y PUERPERIO POR ENFERMEDAD CELÍACA NO DIAGNOSTICADA

J. Calé, C. Díaz, S. Quiroga, M.E. Gandul, A. Paris y R.J. Lutfi
Endocrinología. Complejo Médico (PFA) Churrua Visca. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: La Enfermedad Celíaca (EC) o Enteropatía sensible al gluten se presenta en personas genéticamente predisuestas, probablemente inducido por un mecanismo autoinmune. La incidencia en niños es de 1:250, de los cuales sólo 1 de 7 es sintomático y presenta un diagnóstico temprano. En el resto puede permanecer latente hasta la 4ta-5ta década de la vida o ser desenmascarada en la segunda mitad del embarazo o puerperio.

Caso 1: Mujer de 29 años.

Antecedentes: Tiroiditis de Hashimoto, anemia.

Enfermedad actual: Concorre dos meses posteriores al parto con parestesias peribucles y en extremidades, signo de Chvost-

tek +, Trousseau espontáneo y diarrea de 20 días de evolución.
Lab: Hto: 34,6% Hb: 11 K: 3,03 mEq/L Ca: 5,7 mg/dl P: 3,6 mg/dl alb: 2,1 g% Ca corr: 7 mg/dl Mg: 1,40 mg/dl (1,7-2,8)
Fal: 82 mg/L Glu: 0,82g/L.

ECG: normal Qtc: 0.45

Diagnóstico de hipocalcemia severa con presunción de síndrome malabsortivo.

Serología: Ac-IgG antitransglutaminasa (ATG): 13U (-), Ac-IgA ATG: > 100 (positivo > 30), Ac-IgA antiendomio (+). PTH i: 145pg/ml (N < 72) y Vit D: 15.

FEDA: Patrón en mosaico a nivel de DII. **AP:** vinculable a EC tipo 3c de MARSH.

Caso 2: Mujer de 34 años.

Antecedentes: Colectomía en 1990 por coleditiasis. Episodios de diarreas autolimitadas y distensión abdominal posteriores a la ingesta que persistieron luego de la cirugía.

Enfermedad Actual: Embarazo de 25 semanas, consulta por parestesias peribucales, en extremidades y Trousseau espontáneo.

Lab: Hto: 25% Hb: 8,7 alb: 1,7 g% K: 3 mEq/L Mg: 1,2 mg/dl Ca: 7 mg/dl P: 2,5 mg/dl Ca corr: 8,84 mg/dl TSH: 3,25 mUI/ml T4L: 0,64 ng/dl AcTPO (-) PTH: 225 pg/ml.

Serología: ATG IgA > 103 (+), ATG IgG: 3 (-), Ac anti gliadina IgA: 25, IgG: 35(+)

No concurrió a control ni realizó estudios solicitados.

Conclusión: Durante el embarazo y la lactancia aumentan los requerimientos de Calcio y Vitamina D y se produce un cambio en la reactividad inmunológica que probablemente cause una pérdida de la tolerancia al gluten, hasta ese momento subclínica. Se estima que la incidencia de EC en adultos es de 1:100. La signo-sintomatología es muy variable y puede estar ausente, por lo que se encuentra subdiagnosticada, siendo el embarazo una situación que puede hacerla clínicamente manifiesta.

101

IDENTIFICACIÓN DE POTENCIALES MARCADORES BIOLÓGICOS DE LA ACTIVIDAD DE HORMONA DE CRECIMIENTO EN SANGRE DE ADULTOS CON DEFICIENCIA DE HORMONA DE CRECIMIENTO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA

L. Fernández Pérez¹, F.J. Nóvoa¹, R. Santana Farré¹, N. Ståhlberg², M. Boronat¹, D. Marrero¹, M.J. Rodríguez¹, G. Norstedt² y A. Flores Morales²

¹Grupo de Endocrinología Molecular y Traslacional, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria - Hospital Universitario Insular, Gran Canaria. ²Grupo de Endocrinología Molecular, Departamento de Medicina y Cirugía, Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia.

La deficiencia de Hormona de Crecimiento (GH) en adultos (AGHD) provoca un síndrome clínico bien definido. Este se caracteriza por trastornos de la composición corporal que incluye una reducción de la masa muscular, incremento de la masa grasa, reducción de la densidad ósea y de la fuerza muscular, alteración del perfil lipídico y un deterioro de la calidad de vida y sensación de bienestar. Estas anomalías se revierten con la administración de GH y la terapia de sustitución con esta hormona está plenamente aceptada en el tratamiento de AGHD. El estudio de perfiles de expresión génica a gran escala es una aproximación muy potente que ha sido empleada con éxito para identificar marcadores moleculares de enfermedades como el cáncer. Sin embargo, la utilidad de esta aproximación para medir respuestas a la terapia endocrina no ha sido aún establecida en parte debi-

do al desafío que supone disponer de muestras seriadas procedentes de tejidos dianas. Debido a que los receptores para GH se expresan en diferentes tipos de células sanguíneas humanas, nos planteamos si éstas podrían servir como tejido alternativo para evaluar las acciones de la GH *in vivo*. En este trabajo hemos usado microarreglos de oligos para analizar los perfiles de expresión génica en muestras de sangre procedentes de AGHD con el propósito de identificar no sólo nuevas acciones biológicas de la GH sino además potenciales marcadores de su actividad. Para ello, se tomaron muestras de sangre de 10 pacientes antes y 4 semanas después de comenzar el tratamiento con GH. Los genes de todos los pacientes fueron agrupados y analizados para identificar cambios estadísticamente significativos que se correlacionaran con la administración de GH. Un total de 163 transcritos reunían este criterio de selección. Además, el análisis discriminante (PLS-DA) demostró que los perfiles de expresión de 27 transcritos (p.ej., LCAT, ASB6, IK, ERN1) podían usarse para clasificar a los pacientes de acuerdo al tratamiento y de una forma predictiva. Estos resultados demuestran por primera vez que el uso de sangre periférica es una alternativa farmacogenómica para detectar cambios de expresión génica que son reflejo del tratamiento con GH en adultos y establece las bases para explorar las células de sangre periférica como fuente de identificación de marcadores biológicos en estudios de enfermedades endocrinas.

Financiado por MEC (PETRI1995-0711) y Pfizer (CN-78/02-05045).

102

IL-6, RESISTENCIA A LA INSULINA Y FUNCIÓN ENDOTELIAL EN VARONES SANOS

E. Esteve¹, A. Castro², A. López-Bermejo¹, J. Vendrell³, W. Ricart¹, J.M. Fernández-Real¹

¹Unidad de Diabetes, Endocrinología y Nutrición, y ²Servicio Medicina Interna, Hospital de Girona Dr. Josep Trueta. Girona. ³Departamento de Endocrinología, Hospital de Tarragona "Joan XXIII".

Objetivo: La interleuquina (IL)-6 es una citoquina pro-inflamatoria que está implicada en la patogénesis de la arteriosclerosis y la resistencia a la insulina. Se considera la disfunción endotelial como un factor desencadenante en el desarrollo de la arteriosclerosis y una de las primeras alteraciones que se detectan en las personas con aumento del riesgo cardiovascular. El objetivo de este estudio es evaluar la relación entre los niveles de IL-6, la sensibilidad a la insulina y la reactividad vascular en varones sanos.

Métodos: La sensibilidad a la insulina (minimal model) y la reactividad vascular braquial (ECO-Doppler de alta resolución) fueron analizadas en 99 varones sanos caucásicos. Las concentraciones de IL-6 fueron medidas mediante ELISA.

Resultados: Los niveles de IL-6 contribuyeron de manera independiente en la vasodilatación dependiente de endotelio tras ajustar por edad, índice de masa corporal, tabaco, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y sensibilidad a la insulina ($p = 0,002$). Las concentraciones de IL-6 se asociaron negativamente con la dilatación dependiente de endotelio ($r = -0,247$, $p = 0,014$) y con la sensibilidad a la insulina ($r = -0,262$, $p = 0,011$). No observamos ninguna asociación significativa entre la vasodilatación independiente de endotelio y las concentraciones de IL-6.

Conclusión: Los niveles de IL-6 podrían estar implicados en las fases iniciales del desarrollo de la arteriosclerosis.

103

LA ATROFIA DEL TEJIDO ADIPOSO Y DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO INDUCIDA POR LA ARTRITIS NO ES SECUNDARIA A LA DISMINUCIÓN DE LA INGESTA

E. Castillero, A.I. Martín, M. Granado, M. López-Menduiña, A. López-Calderón y M.A. Villanúa

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

La artritis experimental es un modelo animal de inflamación crónica que se acompaña de una disminución muy marcada del peso corporal, y de la inhibición del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I). El objetivo de este estudio fue dilucidar si el efecto de la artritis sobre estos parámetros está mediado por la disminución en la ingesta que se produce durante la enfermedad, y estudiar el posible papel del IGF-I y la insulina en dicho efecto. Se utilizaron ratas adultas de la raza Wistar, que se dividieron en tres grupos experimentales: un grupo de ratas artríticas, un grupo control y un grupo pair fed, que recibió diariamente la misma cantidad de alimento que comían las ratas artríticas. La artritis se indujo mediante la inyección subcutánea del adyuvante de Freund. Los síntomas de la artritis empezaron a manifestarse el día 10 después de la inyección postadyuvante, y el máximo índice de artritis se alcanzó el día 22. Se valoró cada día el peso corporal, la ingesta sólida y el índice de artritis. Se sacrificaron 8 animales de cada grupo los días 10, 15 y 22. Se midieron los pesos de la grasa periepididimaria, del músculo gastroneumio, las concentraciones séricas de leptina, insulina, IGF-I, y la expresión hepática del IGF-I. Al aparecer los primeros síntomas externos de la enfermedad (días 10-13), disminuyó la ingesta de los animales artríticos y ésta tendió a normalizarse a partir del día 15. Las concentraciones séricas de insulina en las ratas artríticas disminuyeron en los días 10 y 15 ($P < 0,05$), pero no en el día 22. El peso del tejido adiposo fue menor en el día 10 ($P < 0,01$), y disminuyó paralelamente al desarrollo de la artritis. Los niveles séricos de leptina disminuyeron significativamente ($P < 0,01$) desde el día 10 de la enfermedad. Sin embargo, el peso del músculo gastroneumio no disminuyó hasta el día 15 ($P < 0,01$). Tanto las concentraciones séricas como la expresión hepática del gen del IGF-I fueron menores en las ratas artríticas que en las controles en todos los días estudiados. Aunque los animales pair fed tuvieron menor peso corporal que los controles, el peso relativo de la grasa y del gastroneumio, así como los niveles de leptina, insulina e IGF-I fueron similares a los de las ratas control. Estos datos indican que en la artritis experimental la disminución del tejido adiposo y del músculo esquelético no se debe a la disminución de la ingesta y podría estar mediada por la inhibición de la síntesis hepática del IGF-I.

Este trabajo ha sido financiado por una CYCYT (BFU 2006-11899 BFI), una beca a E. Castillero (Gobierno Vasco, BFI06.31) y una beca a M. Granado (FPU, AP2003-2564)

104

LOS DÍMEROS GBETA-GAMMA LIBERADOS EN RESPUESTA A TSH ACTIVAN A LA PI3K Y DISMINUYEN LA TRANSCRIPCIÓN DE NIS IMPIDIENDO LA UNIÓN DE PAX8 AL DNA

M.A. Zaballos, B. García y P. Santisteban

Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Madrid. Madrid.

La TSH transduce su señal al interior de la célula tiroidea uniéndose a su receptor de membrana acoplado a un comple-

jo de proteínas G heterotriméricas. La activación del receptor promueve la separación del complejo de proteínas G, permitiendo la liberación de la subunidad Galfa activada y de los dímeros Gbeta-gamma. Las subunidades Galfa liberadas inducen la activación de la enzima adenilato ciclasa que aumenta la concentración de AMPc intracelular activando diversos efectores implicados en la diferenciación y proliferación celular tiroidea. Sin embargo la señalización desencadenada por los dímeros beta-gamma y sus efectos en la célula tiroidea se desconocen. Para conocer el papel de los dímeros beta-gamma en la diferenciación celular tiroidea se utilizaron células PC C13 en cultivo, que fueron transfectadas para activar o inhibir la señal beta-gamma. En este trabajo demostramos que la señalización inducida por los dímeros beta-gamma en células PC C13 inhibe la activación del promotor de NIS en respuesta a TSH, lo que se refleja en una disminución en los niveles de proteína endógena de NIS. Además el bloqueo de la señal beta-gamma aumenta tanto la actividad del promotor de NIS como la acumulación de la proteína cuando las células son estimuladas con TSH. El efecto inhibitorio de la señal beta-gamma sobre NIS es específico ya que no es observado en la regulación de los genes de Tg o TPO. La PI3K se ha descrito como una diana de los dímeros Gbeta-gamma en distintos sistemas celulares. Se analizó la posibilidad de que en células tiroideas la PI3K medie el efecto inhibitorio de los dímeros Gbeta-gamma sobre la transcripción de NIS. Para ello se utilizaron distintos inhibidores de kinasas y se observó que la TSH es capaz de activar la vía de señalización PI3K/Akt de manera independiente de AMPc, efecto que es impedido por el bloqueo de la señal Gbeta-gamma. La transcripción del gen de NIS está regulada principalmente por el factor de transcripción Pax8. El efecto de los dímeros beta-gamma sobre NIS no se debe a un cambio en el nivel de expresión de Pax8 sino a la reducción en su capacidad de unión al DNA.

En conclusión, nuestros resultados indican que los dímeros Gbeta-gamma liberados por la acción de la TSH disminuyen la expresión de NIS impidiendo la unión de Pax8 al DNA, efecto que es mediado por la vía de la PI3K independientemente de AMPc.

Este trabajo fue financiado con los proyectos BFU2004-03169-BMC (MEC), PIO41216, PIO42374 y RD06/0020/0060.

105

LOS ESTÍMULOS SENSORIALES ACTÚAN DIRECTAMENTE SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL REGULANDO LA SECRECIÓN GÁSTRICA DE GHRELINA. UN ESTUDIO EX VIVO DE ÓRGANOS EN CULTIVOO Al-Massadi^{1,2}, L.M Seoane¹, J.E Caminos³, S. Tovar³, C. Diéguez³, F.F. Casanueva^{1,2}¹Endocrinología Molecular, Área de Investigación, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS),²Departamentos de Medicina y ³Fisiología, Universidad de Santiago de Compostela.

La ghrelina se expresa en diversos tejidos indicando que está implicada en diferentes funciones fisiológicas, sin embargo su principal fuente de producción es el estómago. Es un potente regulador de la ingesta e incrementa la secreción de GH. Existen evidencias del efecto que el ayuno ejerce sobre los niveles de ghrelina en plasma y expresión de ARNm a nivel gástrico, pero no sobre la secreción directa desde el estómago.

Objetivos: Poner a punto un mecanismo "ex vivo" que nos permita estudiar la secreción de ghrelina directamente a partir

de explantos tisulares. Esclarecer como el estado nutricional afecta a la secreción de ghrelina por parte del tejido gástrico. Estudiar el papel del nervio vago sobre la secreción de esta hormona.

Grupos experimentales: Control: alimentación "ad libitum", Ayuno: 36h de ayuno, Realimentación: ayuno 36 horas + realimentación 15 minutos antes del sacrificio, "Tease feeding": ayuno 36h que se les permite ver y oler el alimento pero no masticarlo ni tragarlo 15 minutos antes del sacrificio.

Resultados: El ayuno produce un aumento significativo de la secreción gástrica de ghrelina, expresión de mensajero y niveles circulantes, efecto que es revertido tras la realimentación y el tease feeding a nivel de secreción gástrica pero no a nivel de ARNm. La realimentación disminuye los niveles circulantes de ghrelina de forma sostenida en el tiempo, mientras que en el tease feeding esta inhibición es transitoria.

El bloqueo colinérgico así como la vagotomía quirúrgica, bloquean la acción inhibitoria del tease feeding sobre la secreción de ghrelina por el estómago

Conclusiones: Los estímulos sensoriales, además del estado nutricional, regulan la secreción gástrica de ghrelina a través del nervio vago.

El estómago presenta un mecanismo de memoria conservando las señales recibidas desde el sistema nervioso central incluso 3 horas después de que el tejido haya sido separado del organismo.

106

MACROPROLACTINEMIAS EN EL ÁREA SANITARIA DE SEGOVIA DURANTE EL PERÍODO 2005-2006

P. Tajada Alegre¹, C. García Arévalo¹, M. García de Burgos¹, J.M. González Landa¹ y P. Iglesias Lozano²

¹Servicio Análisis Clínicos, ²Servicio Endocrinología. Complejo Hospitalario de Segovia.

Introducción: La prevalencia y repercusión clínica de la macroprolactina (MPRL) no se conoce con exactitud pero su identificación cuando no existen síntomas clínicos, evita exploraciones radiológicas y tratamientos innecesarios.

Objetivos: 1) Implantar y evaluar un protocolo de detección de MPRL en nuestro laboratorio. 2) Estudiar la presencia de MPRL en nuestra Área Sanitaria. 3) Evaluar las características clínicas y consecuencias de la hiperprolactinemia en pacientes con MPRL.

Material y métodos: Se investigó la presencia de MPRL en sueros con PRL > 30 ng/mL. La PRL sérica se determinó mediante inmunoquimioluminiscencia (MODULAR E-170, Roche Diagnostics) antes y después de precipitar la MPRL con polietilenglicol (PEG 6000 al 25%). Las muestras con % de recuperación de PRL < 50% se clasificaron como macroprolactinémicas. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con MPRL analizando: sexo, edad, procedencia del paciente, motivo inicial de consulta, historia menstrual, fertilidad, galactorrea, función tiroidea, tratamientos previos a la detección de hiperPRL, acciones derivadas tras el diagnóstico de hiperPRL (pruebas de imagen: RMN y/o TAC, tratamiento con agonistas dopaminérgicos).

Resultados: Durante el período de estudio (febrero 2005-enero 2007) se realizaron en nuestro Hospital 2754 determinaciones de PRL sérica, de las cuales 625 (22,7%) presentaron valores de PRL > 30 ng/mL, investigándose en 338 de éstas la presencia de MPRL. Se detectó MPRL en el 10,6% de los pacientes investigados (N=36 pacientes (1 varón de 62 años y 35 mujeres (rango de edad: 17-69 años, media: 39,6)). El rango de PRL sérica en los pacientes con MPRL fue de 32,81-167,3 y el rango de % de recuperación tras precipitación con PEG: 8-50%.

Conclusiones: 1) Es imprescindible que cada laboratorio evalúe la inmunoreactividad de su inmunoensayo a la MPRL. 2) El método de precipitación con PEG es simple, rápido, reproducible y necesario en el diagnóstico de hiperprolactinemia. 3) La hiperprolactinemia debida a MPRL puede conducir a diagnósticos erróneos, exploraciones costosas e innecesarias y tratamientos inadecuados si no es reconocida su presencia. 4) Es necesaria la investigación del significado clínico de la MPRL.

107

PAPEL DE LAS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN WNT EN CÁNCER DE TIROIDES

C.M. Moya, A. Sastre Perona, P. Santisteban

Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" (CSIC), Madrid.

Los procesos tumorales se acompañan de un incremento de proliferación y pérdida de diferenciación celular. Diferentes rutas de señalización intervienen en la regulación de estos procesos, las cuales interaccionan entre sí aportando una mayor complejidad. Las vías de señalización Wnt poseen un papel muy importante en el desarrollo y homeostasis de diferentes tejidos, y se ha encontrado una estrecha relación entre alteraciones de estas rutas y carcinogénesis. Las vías de señalización Wnt se subdividen en: vía Wnt/ β -catenina (canónica), vía Wnt/polaridad planar, vía Wnt/ Ca^{2+} , con varios integrantes en cada una de ellas. La ruta canónica regula la expresión de sus genes diana a través de la unión de β -catenina a los factores de Transcripción de Células T (Tcf/Lef). Se ha demostrado expresión de algunos miembros de las rutas Wnt en tejido tiroideo, así como localización aberrante de β -catenina en células tiroideas tumorales. Sin embargo, tanto el papel de las vías Wnt como su mecanismo de acción en proliferación y transformación celular tiroidea, es poco conocido. Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron: (1) determinar qué miembros de las vías de señalización Wnt se expresan en líneas celulares tiroideas normales y tumorales, y (2) evaluar el papel de la vía Wnt/ β -catenina en la expresión de genes marcadores de diferenciación tiroidea.

En primer lugar, se analizó (mediante RT-PCR semi-cuantitativa y cuantitativa) la expresión de 22 genes de las tres vías Wnt en líneas foliculares tiroideas diferenciadas PCCL3, y tumorales de tipo folicular, palipar y anaplásico. Observándose expresión variable de β -catenina, de algunas glicoproteínas Wnt y de los factores de transcripción Tcf/Lef entre líneas tumorales y normales. En tanto que la expresión de otras proteínas como el co-receptor LRP6, los diferentes receptores Frizzled, y la familia Dishevelled, resultó idéntica en las diferentes líneas celulares analizadas. También se identificaron (por análisis *in-silico*) sitios de unión al ADN de Tcf/Lef en los promotores de los genes del Transportador de Ioduro dependiente de Sodio (NIS), de Tiroglobulina (Tg) y de Tiroperoxidasa (TPO); algunos de los cuales se localizaron en regiones reguladoras importantes. Finalmente, se confirmó el papel de la ruta Wnt/ β -catenina y la funcionalidad de los sitios Tcf/Lef, sobre la expresión de los genes NIS, Tg y TPO, mediante ensayos de co-transfección transitoria sobreexpresando en PCCL3 proteínas integrantes de esta ruta.

Nuestros resultados demuestran que las vías de señalización Wnt están presentes en las células tiroideas, con una expresión diferencial de algunos de sus miembros en las líneas tumorales. Y, que al menos la ruta Wnt/ β -catenina estaría implicada en la regulación de los genes de diferenciación tiroidea pudiendo intervenir en procesos de carcinogénesis de este tejido.

Financiado por proyectos: BFU-2004/03169, FIS PI041216, PI042374 y RD06/0020/0060

108

PAPEL DE LOS RECEPTORES DE HORMONAS TIROIDEAS EN LA PROLIFERACIÓN, DIFERENCIACIÓN DE LA PIEL Y RECRECIMIENTO DEL PELO

L. García¹, M. Gómez-Ferrería¹, B. Vennstrom², J.M. Paramio³ y A. Aranda¹

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas, Madrid, ²Instituto Karolinska, Suecia; ³CIEMAT, Madrid.

Los receptores de hormonas tiroideas (TRs) están codificados por dos genes α y β que dan lugar a diferentes isoformas. Para analizar el papel de estos receptores en la piel, hemos utilizado ratones dobles knock-out (TR α -/-/TR β -/-) carentes de ambos genes que hemos comparado con ratones controles. En condiciones normales no existen diferencias aparentes en la histología de la piel entre los grupos, aunque se detecta una disminución importante en la incorporación de bromodeuxiuridina (BrdU) en los folículos pilosos de los animales TR α -/-/TR β -/-, lo que sugiere que estos receptores pueden jugar un papel en el crecimiento del pelo. Para confirmar este hecho hemos comparado el recrecimiento del pelo tras la depilación y tratamiento tópico con ácido retinoico (RA) durante 48h tanto en ratones normales como knock-out para los TRs. El efecto de la ausencia de TRs sobre la piel no se limitó a un retraso en el crecimiento del pelo así como disminución en la expresión de queratina 15 (K15), un marcador de células madre en folículos, sino que también influyó en otras estructuras produciéndose una fuerte alteración de la epidermis interfolicular en los animales TR α -/-/TR β -/- tratados con RA. Esta alteración condujo a la formación de heridas y venía acompañada de una reacción inflamatoria exagerada existiendo un aumento en la expresión de citoquinas proinflamatorias como la interleuquina 6 (IL-6) o TNF α . Además observamos un aumento en la expresión de proteínas S100a, implicadas en el reclutamiento de neutrófilos, tanto basalmente como tras la aplicación de RA en los animales knock-out. Observamos que en ausencia de TRs se altera la respuesta a RA provocando alteraciones en la diferenciación de los queratinocitos tanto temprana, queratina 10 (K10), como tardía, loricrina, así como una desorganización de capas espinosa, granular y córnea de la epidermis.

110

PERFIL CLÍNICO Y REPERCUSIÓN METABÓLICA Y CARDIOVASCULAR DEL HIPERALDOSTERONISMO PRIMARIO

J. Castillo¹, F. Pomares², P. Morillas¹, L. López², J. Quiles¹, V. Bertomeu-González¹, D. Núñez², S. Guillén¹, J.M. Ruiz² y J.R. Domínguez²

¹Sección de Cardiología. ²Sección de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario San Juan de Alicante.

Objetivos: En los últimos años hemos asistido a un incremento diagnóstico de hiperaldosteronismo primario (HAP) debido a la introducción del cociente Aldosterona/Actividad de la renina plasmáticas (Ald/ARP) en el despistaje de HTA secundaria. Los pacientes con HAP presentan una tasa elevada de síndrome metabólico; así como mayor afectación de órganos diana, predominando una alta tasa de afectación cardiovascular. Los objetivos del estudio que presentamos es determinar el perfil clínico de estos pacientes, analizar la repercusión metabólica y cardiovascular, establecer las diferencias respecto a pacientes con HTA de otra etiología, y por último estimar la prevalencia

de esta patología en una consulta especializada de HTA.

Metodología: Se incluyen en el estudio aquellos pacientes que presentan HTA no controlada en el ámbito de la atención primaria, pacientes con necesidad de tres o más fármacos para control de su HTA, o pacientes con un debut precoz de HTA. Posteriormente se somete al paciente a un completo screening de HTA secundaria que incluye la determinación del cociente Ald/ARP. El diagnóstico definitivo de HAP se establece con un test de sobrecarga hídrica en aquellos pacientes con cociente Ald/ARP > 30 ng/dl y un nivel de aldosterona plasmática > 20 ng/dl, previa sustitución de los fármacos que alteran el eje Renina/Angiotensina/Aldosterona durante un mes previo al test. Finalmente se compara el perfil clínico de estos pacientes con respecto al resto de hipertensos con los test estadísticos adecuados.

Resultados: Se incluyeron 183 pacientes con una edad media de 58 años (SD 13,55). Se encontró un 6% de HAP entre los pacientes estudiados. Estos pacientes presentaron mayores cifras de TAS con respecto al resto de hipertensos (168,5 vs. 154,4 mmHg; $p < 0,041$), mayor tasa de daño de órgano diana (81,8% vs. 40,6%; $p < 0,009$); y mayor afectación cardíaca definida por: mayor frecuencia de cardiopatía isquémica previa (27,3% vs. 3,5%; $p < 0,011$); y mayor tasa de hipertrofia ventricular izquierda tanto electrocardiográfica (11,6% vs. 45,5%; $p < 0,008$); como ecocardiográfica, determinada por masa ventricular izquierda (145,5 vs. 97,52 g/m²; $p < 0,0001$). No hubo diferencias significativas en cuanto a edad, sexo ni otros factores metabólicos ligados a daño orgánico. Aunque la tasa de Diabetes Mellitus en los pacientes con HAP fue mayor, no alcanzó la significación estadística (27,3% vs. 9,3%; $p = 0,092$).

Conclusiones: El HAP es una etiología de HTA secundaria infraestimada, presentando una prevalencia mayor que la clásicamente aceptada. Además no se trata de una enfermedad indolente ya que se acompaña de mayor daño metabólico y orgánico que la HTA de otras causas, por lo que es preciso su identificación y manejo precoz.

111

PAPEL DE LA CICLOOXIGENASA-2 EN LA ATROFIA DEL TEJIDO ADIPOSO INDUCIDA POR LA ARTRITIS EXPERIMENTAL

A.I. Martín, M. Granado, E. Castellero, M. López-Mendiña, M.A. Villanúa y A. López-Calderón

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

La artritis experimental se utiliza como modelo animal de la artritis reumatoide y del estrés inflamatorio crónico. La artritis induce caquexia y una disminución de la secreción de la GH y del IGF-I. Se ha postulado que la pérdida de tejido adiposo puede ser debido a un aumento de la proteína lipolítica ZAG (glicoproteína zinc-alfa) y de la UCP-2 (proteína desacoplante-2). Los inhibidores de la COX-2 mejoran la caquexia inducida por el cáncer. El objetivo del presente trabajo fue analizar el papel de las prostaglandinas producidas por la activación de la COX-2 en la pérdida de tejido adiposo que tiene lugar en la artritis experimental. Para ello se indujo la artritis a ratas macho de la raza Wistar mediante una única inyección intradérmica del adyuvante de Freund. Los síntomas de la artritis comienzan a manifestarse el día 10 postadyuvante y alcanzan su índice máximo el día 22. En el día 15 los animales controles y los artríticos se dividieron en 2 grupos. A un grupo diariamente se le administró por vía subcutánea 1 mg/kg de meloxicam, un inhibidor específico de la COX-2, durante un período 8 días y el otro fue tratado

con solución salina. Los animales se sacrificaron en el día 22. Se cuantificó el peso de la grasa periepididimaria y se determinaron mediante RIA las concentraciones séricas de leptina e IGF-I, y mediante PCR-RT la expresión génica del mRNA del ZAG y del IGF-I hepáticos, de la GH hipofisaria y de los genes de la leptina y de la UCP-2 en el tejido adiposo. La artritis indujo una disminución significativa ($p < 0,01$) del peso corporal y del tejido adiposo ($p < 0,01$), junto con una disminución de la expresión hipofisaria de la GH ($p < 0,01$) y de los niveles séricos de IGF-I y de su mRNA hepático ($p < 0,01$). La artritis también disminuyó significativamente ($p < 0,01$) los niveles séricos de leptina y la expresión de este gen en el tejido adiposo. La administración de meloxicam no modificó la respuesta de la leptina a la artritis e indujo en los animales controles una disminución significativa ($p < 0,05$) tanto de las concentraciones séricas de leptina, como de la expresión del gen. La disminución del tejido adiposo no parece deberse a un aumento en la expresión de la UCP-2 o del ZAG, ya que la artritis disminuyó la expresión del gen de ambas proteínas en el tejido adiposo y en el hígado respectivamente. El meloxicam además de disminuir los síntomas de la artritis, previno la disminución del peso corporal y del tejido adiposo ($p < 0,01$), de los niveles séricos de IGF-I y su mRNA hepático y de la expresión hipofisaria del gen de la GH. Todos estos datos sugieren que la mejora en la disminución del peso corporal y en la recuperación del tejido adiposo producida tras el tratamiento con meloxicam pueden deberse en parte a los efectos de este compuesto sobre el eje GH-IGF-I más que a cambios en la UCP-2 o en el ZAG.

Este trabajo ha sido financiado por una CYCYT (BFU 2006-11899 BFI), una beca a M.Granado (FPU, AP2003-2564) y una beca a E.Castillero (Gobierno Vasco, BFI06.31).

112

PREVALENCIA DE DISFUNCIÓN TIROIDEA EN MUJERES EMBARAZADAS DIAGNOSTICADAS DE DIABETES GESTACIONAL

J.A. Lucas, V. Luna, M.D. Avilés, MS. Gutiérrez, J. Díaz, F. Morales, P. Beato, L.J. Fernández, LM Luengo, R. Hernández y M. Cabanillas

S. Endocrinología y Nutrición. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz.

Introducción: Se ha descrito que la disfunción tiroidea durante el embarazo se asocia a un aumento de abortos espontáneos, hipertensión, partos pre-términos, crecimiento intrauterino retardado y alteraciones de función tiroidea post-parto. Por este motivo, algunas Sociedades científicas, tales como The American Association of Clinical Endocrinologist (AACE), recomiendan screening universal de función tiroidea en todas las mujeres gestantes.

Objetivos: Determinar la prevalencia de alteraciones de la función tiroidea (hipotiroidismo e hipertiroidismo) en las pacientes gestantes que son remitidas al Servicio de Endocrinología para tratamiento de diabetes gestacional y las características clínicas de los embarazos y partos de dichas pacientes.

Pacientes y métodos: Se ha realizado determinación de función tiroidea (TSH y T4 libre) en una población de 408 mujeres gestantes diagnosticadas de diabetes gestacional. Edad media: $33,1 \pm 4,4$ años; Peso: $73,4 \pm 13,3$ kg; IMC: $29,3 \pm 5,5$ kg/m². Edad gestacional de las determinaciones hormonales: $28,9 \pm 3,5$ (12-38) semanas. El 23% de las pacientes habían tenido previamente al menos 1 aborto y el 17% habían sido diagnosticadas de HTA antes de la gestación.

Resultados: 6 mujeres (1,5%) han sido diagnosticadas de disfunción tiroidea durante el screening que realizamos en nuestra consulta. De estas pacientes diagnosticadas, 4 de ellas tenían hipotiroidismo primario (66,6%) y 2 hipertiroidismo primario (33,3%). Los datos clínicos de estas pacientes fueron:

	Diagnóstico	Edad (años)	Peso (kg)	Inicio de tratamiento (semanas)	HTA	Abortos previos	Tipo parto (Semana gestación)	Peso RN (gr)
Paciente 1	Hipotiroidismo	36	51	28	No	No	Vaginal (40)	2750 (P < 10)
Paciente 2	Hipotiroidismo	36	78	29	Si	No	Vaginal (40)	4000 (P > 90)
Paciente 3	Hipotiroidismo	29	80	31	No	Si (2)	Cesárea (41)	3430
Paciente 4	Hipotiroidismo	37	81	15	No	Si (1)	Vaginal (39)	3440
Paciente 5	Hipertiroidismo	32	68	32	No	No	Vaginal (40)	3720
Paciente 6	Hipertiroidismo	34	64	32	No	No	Vaginal (39)	2650 (P < 10)

Conclusiones: La existencia de disfunción tiroidea en mujeres gestantes y la co-morbilidad asociada a ella tiene una notable prevalencia en nuestra población. Dado que la determinación de hormonas tiroideas es una prueba de bajo coste económico, recomendamos la realización de la misma de forma universal en las mujeres gestantes desde el inicio del embarazo, unido al resto de las pruebas de screening ya estandarizadas.

113

REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GH POR PÉPTIDOS DERIVADOS DEL GEN PRECURSOR DE GHRELIN EN RATAS EN FREEL Y MOVING

M.J. Vázquez¹, S.A. Tovar¹, F.F. Casanueva² y C. Diéguez¹

¹Dpto. Fisiología, Facultad de Medicina. USC, ²Dpto. Endocrinología Molecular, Facultad de Medicina. USC.

Introducción: El Ghrelin es un péptido secretado por el estómago que está caracterizado por su potente efecto orexigénico. Recientemente se ha descrito que el gen precursor de Ghrelin da lugar a una serie de péptidos entre los que se encuentran Obestatina, Ghrelin no esterificado (UAG) y péptido generado por la delección del exón 4. Estos péptidos pueden influir en la ingesta, en algunos casos de manera opuesta a Ghrelin.

Es bien conocido que Ghrelin es un potente liberador de GH en todas las especies estudiadas, teniendo un efecto incluso mayor que GHRH, en experimentos *in vivo*.

Esto nos llevó a preguntarnos el efecto de estos péptidos sobre la secreción de GH para esclarecer su papel neuroendocrino.

Objetivo: Analizar los efectos del tratamiento iv de los distintos péptidos derivados del gen precursor de Ghrelin (Obestatina, UAG y Ghrelin deleccionado en el exón 4) sobre la secreción espontánea de GH y en respuesta a Ghrelin.

Material y métodos: Ratas macho Sprague Dawley (200-250 g) a las que se le implantaron cánulas intracardíacas. El día del experimento los animales fueron tratados con los péptidos indicados anteriormente mediante un único bolo intravenoso. Las muestras de sangre fueron obtenidas de manera seriada a tiempos determinados (según protocolo de pulsatilidad o respuesta), y posteriormente analizadas mediante RIA.

El test estadístico utilizado fue el Mann-Withney.

Resultados: La Obestatina no es capaz de producir cambios en la secreción espontánea de GH, ni afecta a la respuesta de GH a Ghrelin.

En el caso de UAG y Ghrelin deleccionado en el exón 4 tampoco observamos ningún efecto ni en la secreción de GH ni en la respuesta de GH a Ghrelin.

Conclusión: Nuestros datos muestran que el papel regulador de Ghrelin sobre la secreción de GH no es mimetizado ni antagonizado por ninguno de los otros péptidos generados a partir del precursor del mismo gen.

114

RENTABILIDAD DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS DE IMAGEN EN LA LOCALIZACIÓN DEL INSULINOMA Y SU TRATAMIENTO. NUESTRA EXPERIENCIA EN 12 CASOS

M.D. Moure¹, M. Marazuela¹, M. López¹, L. Nattero¹, E. Larrañaga², J.L. Caniego³, P. Martínez de Icaya⁴, C. Bernal⁵ y A. Gómez-Pan¹

¹Servicios de Endocrinología y Nutrición, ²Cirugía General,

³Radiología Vascular del Hospital Universitario De la

Princesa, ⁴Endocrinología del Hospital Severo Ochoa,

⁵Endocrinología del Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: Revisión de la presentación clínica, sensibilidad y especificidad de las diferentes técnicas de localización utilizadas y tratamientos empleados en pacientes diagnosticados de insulinoma.

Material y métodos: Estudio retrospectivo y descriptivo de pacientes con diagnóstico de insulinoma estudiados en nuestro centro durante el período de 1992-2007. Se evaluaron edad, sexo, clínica, niveles de insulina y glucosa, resultados de estudios de localización, técnica quirúrgica empleada, características anatomopatológicas y morbi-mortalidad en todos los casos.

Resultados: Fueron estudiados 12 pacientes, 8 mujeres, con una edad de $55 \pm 14,4$ años. La clínica fue de neuroglucopenia en 90% y síntomas simpato-adrenérgicos en 50%. En todos los casos se demostró una relación insulina/glucosa elevada. Las tasas de detección del tumor fueron para la ecografía transabdominal 20% (2/10), tomografía axial computerizada 40% (4/10), resonancia magnética nuclear 28,5% (2/7) y gammagrafía con octreótido marcado 16,6% (1/6), consiguiéndose la localización del 41,6% de los tumores con estas técnicas. La arteriografía con inyección de calcio y la ecografía intraoperatoria identificaron el tumor en todos los casos en los que fueron realizadas (n = 6 y n = 8 respectivamente). Dos pacientes presentaron insulinomas malignos con metástasis ganglionares. La técnica quirúrgica empleada fue la enucleación en 6, resección distal del páncreas en 3 y duodeno-pancreatectomía cefálica en 3. En ningún caso se asoció el insulinoma a neoplasia endocrina múltiple tipo 1. No existió mortalidad postoperatoria. Todos los pacientes se encontraban asintomáticos 6 meses tras cirugía.

Conclusiones: La arteriografía con inyección intra-arterial de calcio es la prueba preoperatoria más sensible, pero debido a su complejidad debe reservarse para pacientes sin diagnóstico de localización previo. La alta sensibilidad y el bajo coste de la ecografía intraoperatoria la convierten en una técnica sencilla y muy útil durante el procedimiento quirúrgico tanto para localización tumoral como para valoración de extensión.

115

UTILIDAD DE PAAF TIROIDEA GUIADA Y NO GUIADA POR ECOGRAFÍA

J. Silva Fernández¹, L. Louhibi Rubio¹, J.C. Padillo Cuenca¹, L. Salinero González¹, A. Vidal Jiménez, M.A. Gálvez Moreno² y P. Benito López¹

¹Servicio de Endocrinología y Nutrición, ²Servicio de Anatomía-Patológica. Hospital Universitario Reina Sofía.

Introducción: La PAAF de nódulo tiroideo es un método poco invasivo y seguro para el diagnóstico histológico de scre-

ening. Obtiene una muestra adecuada para estudio en el 80% de los casos, siendo el 90% cuando se realiza bajo control ecográfico.

Objetivos: Describir características de las PAAFs no guiadas y guiadas por ecografía, realizadas en nuestro centro desde octubre del 2005 hasta septiembre del 2006.

Material y métodos: Se revisaron 300 historias de pacientes sometidos a PAAF de nódulo tiroideo durante el período de estudio.

Se realizaron guiadas por ecografía cuando se trataba de un hallazgo incidental que no se palpaba a la exploración.

Se registraron los siguientes datos: edad, sexo, tamaño del nódulo, Servicio que solicita la PAAF, diagnóstico histológico y biopsia en casos sometidos a tiroidectomía.

Resultados: De las 307 PAAF, 61 se realizaron bajo control ecográfico. De los 300 pacientes, 34 eran hombres y 262 mujeres, con una edad media de 58,62 años (25-81) y 48,69 años (8-86). De las PAAFs realizadas bajo control ecográfico 18,6% fueron solicitados por Servicio de Anatomía patológica y 23,3% de los casos se trataba de nódulos inferiores a 1 cm, descartándose malignidad en todos ellos.

Los diagnósticos histológicos:

	PAAF guiadas	PAAF no guiadas
Benignas	44 (72,1%)	166 (67,5%)
Malignas	3 (4,9%)	2 (0,8%)
Sospechosas	1 (1,6%)	8 (3,3%)
No valorables	13 (21,3%)	55 (22,4%)
Técnica no realizable	0 (0%)	15 (6,1%)
Total	61	246

Conclusiones: En nuestro centro, la PAAF de nódulo tiroideo obtiene una muestra histológica adecuada en la mayoría de los casos, similar a otros estudios. No podemos afirmar, en cuanto al número de muestras no valorables, que existan diferencias entre PAAF convencional y PAAF ecoguiada. No estaría indicado realizar PAAF en nódulos inferiores a 1 cm. En nuestra serie, no se registran falsos positivos ni negativos en la PAAF guiada bajo control ecográfico.

116

VALORACIÓN DE UN NUEVO REACTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROLACTINA

P. Tajada Alegre¹, C. García Arévalo¹, M. García de Burgos¹, J.M. González Landa¹ y P. Iglesias Lozano²

¹Servicio Análisis Clínicos, ²Servicio Endocrinología. Complejo Hospitalario de Segovia.

Introducción: La macroprolactina (MPRL) puede ser el componente inmunoreactivo mayoritario de la prolactina (PRL) circulante en algunos individuos y causa aparente de hiperprolactinemia asintomática. Los inmunoensayos presentes en el mercado presentan diferente reactividad con la MPRL, siendo el sistema Elecsys (Roche Diagnostics) el que mayor reacción cruzada presentaba. Recientemente este fabricante ha introducido un nuevo reactivo para la determinación de PRL con menor afinidad por la MPRL.

Objetivos: Comparar los resultados de PRL obtenidos con el reactivo anterior (Elecsys Prolactin) y el nuevo reactivo (Elecsys Prolactin-II). Valorar la posible intercambiabilidad de resultados.

Material y métodos: Se procesaron un total de 176 sueros (24 con MPRL y 152 sin MPRL) en los que se determinó la concentración de PRL con ambos reactivos utilizando un método de electroquimioluminiscencia (ECLIA) en un analizador MODU-

LAR E-170 (Roche Diagnostics). La presencia de MPRL se detectó mediante precipitación con polietilenglicol (PEG 6000). Las muestras con recuperación de PRL monomérica < 50% se clasificaron como portadoras de MPRL como forma predominante. La comparación estadística de los resultados obtenidos se realizó mediante el análisis de regresión lineal no paramétrica de Passing-Bablok (P/B) y el coeficiente de correlación de Pearson (r) en los programas estadísticos SPSS y MedCalc.

Resultados: La recta de regresión de P/B para las muestras sin MPRL se ajustó a la siguiente fórmula: Elecsys Prolactin II = $-2,3593 + 0,8745 \cdot \text{Elecsys Prolactin}$ con un intervalo de confianza para la ordenada en el origen de -4,3072 a -1,1526 y para la

pendiente de 0,8432 a 0,9141 ($r = 0,9800$ $p < 0,0001$). El 75% de las muestras con MPRL presentaron valores normales con el nuevo reactivo.

Conclusiones: Los resultados obtenidos con los dos reactivos a pesar de tener una elevada correlación no son estadísticamente intercambiables al presentar diferencias constantes y proporcionales por lo que es necesario establecer valores de referencia para el nuevo reactivo. Consideramos que el nuevo reactivo supone una evolución positiva respecto al anterior ya que aumenta la especificidad clínica en el diagnóstico de hiperprolactinemias al tener menor inmunoreactividad con la MPRL.