

## Inflamación, estrés oxidativo y arteriosclerosis

### LA IL10 DISMINUYE LA TRANSCRIPCIÓN DE FACTORES INFLAMATORIOS INDUCIDA POR ACCIÓN DE LA LDL ELECTRONEGATIVA (LDL(-)) EN CÉLULAS MONONUCLEARES

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

*Institut de Recerca del Hospital de Sant Pau. Barcelona.*

**Introducción y objetivos:** La LDL(-) es una fracción minoritaria de LDL que promueve la liberación de factores inflamatorios en células endoteliales y en mononucleares. Concretamente, en monocitos y linfocitos aisladas de plasma humano induce las siguientes moléculas: MCP1, GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , IL6, IL8 y IL10. Estas citoquinas inducidas en células mononucleares por la LDL (-) son inflamatorias, excepto la IL10 que está considerada como antiinflamatoria. El presente estudio se ha centrado en estos tipos celulares y se plantearon dos objetivos: comprobar si la acción de la LDL (-) tenía lugar a nivel transcripcional y evaluar el efecto de la IL10 en la transcripción de las otras citoquinas inducidas.

**Métodos y resultados:** Se incubaron las células mononucleares con LDL (+) y LDL (-) (150 mg/L apoB) durante 4 y 20 horas. Posteriormente se extrajo el ARN y se valoró mediante PCR a tiempo real el número de copias para las diferentes citoquinas inducidas por la LDL (-). En este aspecto, se observó que la LDL (-) promovió un aumento en la transcripción de 2-3 veces respecto a la LDL (+) de MCP1, GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , IL6, IL8 y IL10. Respecto al tiempo de incubación, se observaron más copias de ARN a 4 horas que a 20, oscilando este incremento entre 3-10 veces según la citoquina evaluada.

El papel de la IL10 se evaluó coincubando las células con LDL (-) e IL10 exógena (5  $\mu$ g/L) y comparando con el efecto ejercido por la LDL (-) sola. Se obtuvo que la adición de IL10 inhibió entre un 50-80% la transcripción de los otros factores inducidos por la LDL (-). Además, la IL10 exógena provocó la inhibición del número de copias de ARN de la propia IL10.

**Conclusión:** La LDL (-) indujo la transcripción de citoquinas inflamatorias en monocitos y linfocitos, pero también promovió la citoquina antiinflamatoria IL10. La IL10 parece contrarrestar la inducción de las otras citoquinas y, por tanto, desarrollaría un importante papel disminuyendo la acción inflamatoria de la LDL (-).

### INTERACCIONES ENTRE ALDOSTERONA, MEDIADORES INFLAMATORIOS Y FIBRÓTICOS EN EL DAÑO RENAL ASOCIADO A LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

N. de las Heras<sup>1</sup>, M. Ruiz-Ortega<sup>4</sup>, M. Miana<sup>1</sup>, B. Martín<sup>1</sup>, S. Mezzano<sup>3</sup>, I. Aranguéz<sup>2</sup>, V. Cachofeiro<sup>1</sup>, J. Egido<sup>4</sup> y V. Lahera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. Madrid. <sup>3</sup>División de Nefrología, Facultad de Medicina, Universidad Austral. Valdivia. Chile. <sup>4</sup>Laboratorio de Investigación renal y vascular. Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid.

Diversos estudios clínicos y experimentales han demostrado que la aldosterona juega un papel importante en las alteracio-

nes cardiovasculares asociadas a diferentes situaciones fisiopatológicas. Sin embargo, no está bien establecido el papel de la aldosterona en los procesos inflamatorios y fibróticos que contribuyen al desarrollo del daño renal asociado a la hipertensión, así como los posibles mediadores implicados. Nuestro objetivo fue estudiar el efecto del bloqueo de los receptores de mineralocorticoides sobre el daño renal y los mediadores inflamatorios y profibróticos renales en ratas hipertensas. Se utilizaron ratas macho espontáneamente hipertensas (SHR) de 18 semanas de edad, tratadas durante 10 semanas con dos dosis del antagonista de los receptores de mineralocorticoides, Eplerenona (E30 y E100 mg/kg/día) y ratas normotensas Wistar Kyoto (WKY) como grupo de referencia. Al final del tratamiento se midió la presión arterial sistólica, los niveles de creatinina plasmática, el aclaramiento de creatinina y la proteinuria. Se evaluó la expresión renal del ARNm de IL-1beta, TNF-alpha y CTGF y la activación del factor de transcripción NF-kappaB en extractos nucleares de riñón. Asimismo, se evaluó la densidad de colágeno y la estructura renal. Las SHR presentaron unos valores de PAS mayores que las ratas WKY. Sólo el tratamiento con E100 redujo estos valores. Los niveles plasmáticos de creatinina fueron comparables en todos los grupos. El aclaramiento de creatinina y la proteinuria fueron mayores en las SHR que en las WKY, y ninguna de las dosis modificó estos parámetros. Los niveles de ARNm de IL-1beta, TNF-alpha y CTGF fueron mayores en SHR que en WKY. Ambas dosis normalizaron los niveles de las citocinas proinflamatorias y disminuyeron la expresión del CTGF. La activación del NF-kappaB renal fue mayor en las SHR y sólo E100 redujo dicha activación. Ambas dosis redujeron la densidad de colágeno y las alteraciones estructurales renales observadas en las SHR. En conclusión, la aldosterona participa en el daño renal asociado a hipertensión en ratas y esta participación parece estar mediada, al menos en parte, por la estimulación de mediadores inflamatorios y fibróticos.

### RELACIÓN ENTRE ENVEJECIMIENTO ATROSCLEROSIS SUBCLÍNICA Y MARCADORES INFLAMATORIOS

J.A. Rodríguez, R. Serrano Vargas, J. Barrenetxea Huici, L. Montori González, V. Angós Iturgaiz, J. Orbe Lopategui y J.A. Páramo Fernández

Laboratorio de Aterosclerosis. Área de Ciencias Cardiovasculares. CIMA-Universidad de Navarra. Pamplona.

**Objetivos:** La aterosclerosis es independiente del proceso biológico del envejecimiento normal, aunque a menudo es su compañero habitual, debiendo considerarse como un hecho patológico añadido a la edad. El objetivo de este estudio es determinar el estatus inflamatorio asociado al envejecimiento en una población asintomática por sus posibles implicaciones en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

**Método y resultados:** Hemos determinado el perfil metabólico y marcadores inflamatorios y de daño endotelial como la proteína C-reactiva (CRP), interleucina-6 (IL-6), fibrinógeno y factor von Willebrand (fvW), así como el espesor intima-media (EIM) carotídeo, como marcador de aterosclerosis subclínica, en 890 sujetos (55 ± 10 años, 80% varones) todos ellos asintomáticos y con factores de riesgo cardiovascular.

En el análisis por cuartiles de edad, hemos observado un aumento de factores de riesgo tradicionales como glucosa y presión arterial en sujetos de edad avanzada en relación a cuartiles de edad inferior ( $p < 0,01$ ). Los parámetros inflamatorios y de daño endotelial, así como el EIM también se asociaron significativamente con el proceso de envejecimiento (tabla).

	< 45 años	45-55 años	55-60 años	61-80 años	ANOVA (p)
Fibrinógeno	241,1 ± 96,4	271,4 ± 86,0	284,3 ± 82,5	318,0 ± 90,6	< 0,001
IL-6#	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,3	1,8 ± 0,2	3,5 ± 0,5	< 0,001
CRP#	3,2 ± 0,2	3,5 ± 0,3	4,0 ± 0,3	4,6 ± 0,4	0,015
fvW#	140,7 ± 5,9	132,5 ± 5,4	134,3 ± 4,6	152,3 ± 5,7	0,009
EIM	0,65 ± 0,13	0,70 ± 0,14	0,75 ± 0,16	0,83 ± 0,20	< 0,001

#media ± error estandar y transformados logarítmicamente para su normalización.

En el análisis multivariante, tras ajustar por los factores de riesgo y otros parámetros asociados con la edad, se observó una asociación entre disfunción endotelial (factor von Willebrand), inflamación (IL-6) y aterosclerosis subclínica (EIM) y el proceso de envejecimiento.

**Conclusión:** Concluimos que es posible detectar un mayor grado de aterosclerosis subclínica, inflamación sistémica y daño vascular en relación con el proceso de envejecimiento. El fenotipo proinflamatorio asociado a la edad puede predisponer al desarrollo de complicaciones cardiovasculares.

### EFFECTO SINÉRGICO DE FLUVASTATINA DE LIBERACIÓN PROLONGADA Y EZETIMIBA SOBRE LOS NIVELES DE PCR-HS EN PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA PRIMARIA CON ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR

L. Álvarez-Sala Walther<sup>5</sup>, V. Cachofeiro Ramos<sup>2</sup>, B. Pinilla<sup>5</sup>, N. Plana<sup>3</sup>, F. Trias<sup>4</sup>, M.A. Moreno<sup>1</sup>, G. Gambus<sup>7</sup>, V. Lahera<sup>2</sup>, C. Suárez<sup>6</sup>, L. Masana<sup>3</sup> y X. Pinto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitario La Princesa. Madrid. <sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid. <sup>3</sup>Hospital Universitario Sant Joan, Universitat Rovira i Virgili. Reus. <sup>4</sup>Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. <sup>5</sup>Hospital Gregorio Marañón. Madrid. <sup>6</sup>Hospital La Princesa. Madrid. <sup>7</sup>Novartis Farmacéutica.

Se evaluó el efecto de la administración de fluvastatina de liberación prolongada (XL) 80 mg/día sola o en combinación con ezetimiba (10 mg/día) durante 12 semanas sobre marcadores de inflamación en pacientes con hipercolesterolemia primaria en un estudio multicéntrico, randomizado, abierto (n: 82). Los niveles basales de los marcadores de inflamación (PCR-hs, IL-6, IL-1β, TNF-α, sP-selectina y sVCAM-1) fueron similares en ambos grupos de tratamiento. En pacientes con niveles basales de PCR-hs > 2mg/L, la combinación de fluvastatina con ezetimiba disminuyó los niveles de PCR-hs ( $p < 0,02$ ), mientras que no se observaron cambios con la administración de fluvastatina sola. Asimismo, sólo la combinación disminuyó los niveles de PCR-hs en pacientes con  $\geq 1$  factores de riesgo cardiovascular (FRCV) adicional o hipertensión sola ( $p < 0,05$  y  $p = 0,015$ , respectivamente). Estos pacientes presentaban mayores niveles basales de PCR-hs que los que no presentaban FRCV adicionales (2,8 ± 2,4 vs 1,2 ± 1,2 mg/L,  $p < 0,001$ ) o que los sujetos normotensos (3,0 ± 2,5 vs 1,8 ± 1,8 mg/L,  $p < 0,01$ ). Existe una correlación directa entre la reducción relativa de los niveles de PCR-hs y la de los niveles de LDL-C ( $r = 0,476$ ,  $p < 0,0001$ ) y colesterol total ( $r = 0,399$ ,  $p < 0,0007$ ), que fueron reducidos en mayor medida con la combinación de fluvastatina-ezetimiba que con monoterapia (LDL-C: 49,9% vs 35,2%,  $p = 0,0002$ ; colesterol total: 38,2% vs 27,5%,  $p = 0,0006$ ). Ambos tratamientos redujeron de manera significativa los niveles IL-1β. La reducción de los niveles de IL-1β producida por ambos tratamientos fue independiente de la presencia o ausencia de FRCV adicionales. No se observaron cambios significativos en los niveles de IL-6, TNF-γ, sP-selectina o sVCAM-1 con ningun-

no de los tratamientos. En resumen, estos datos sugieren un efecto sinérgico de la combinación de fluvastatina con ezetimiba en la reducción de los niveles de PCR-hs en pacientes con alto riesgo cardiovascular. Este efecto puede ser debido a la mayor reducción de los niveles de LDL-C alcanzado por la combinación.

### LA VARIACIÓN INDIVIDUAL EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES SCAVENGER EN MACRÓFAGOS HUMANOS ESTIMULADOS CON LDL OXIDADA SE ASOCIA CON UNA RESPUESTA INFLAMATORIA DIFERENCIAL

P. Martín Fuentes, F. Civeira, D. Recalde, M. Solanas Barca, E. Jarauta y A. Cenarro

Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet, I+CS. Zaragoza.

**Objetivo:** Los receptores "scavenger" (RS) CD36, SR-A y LOX-1 captan el 90% de LDL oxidada (LDLox), promoviendo la formación de la célula espumosa y la secreción de citoquinas inflamatorias. Previamente hemos demostrado que existe una variación inter-individual en la formación de la célula espumosa, contenido intracelular de colesterol y expresión de citoquinas frente a LDLox "in vitro". Nuestra hipótesis es que las diferencias inter-individuales en la expresión de RS de macrófagos estimulados con LDLox podrían determinar la variabilidad inflamatoria observada.

**Métodos:** Se aislaron y cultivaron las células mononucleares de 18 sujetos. En el día 9 se suplementaron con 50 microg/mL de LDLox durante periodos de incubación de 1, 3, 6 y 18 horas. Se extrajo el RNA total con el kit RNeasy (Qiagen) y se realizó una retrotranscripción con SuperScript III 200 UI. A partir del cDNA sintetizado, se llevó a cabo una PCR cuantitativa en tiempo real utilizando sondas TaqMan para los genes: CD36, SR-A, LOX-1, PPARgamma, IL8, IL1beta, CXCL3, TNFalpha y NfkbA, utilizando 18srRNA, RPLP0 y HPRT1 como genes endógenos.

**Resultados:** El perfil de expresión génica individual de los RS estudiados a 1 hora de incubación mostró un amplio rango de variación: CD36: -3,57 a 4,22, SR-A: -5,0 a 4,43 y LOX-1: -1,56 a 75,32. La sobreexpresión génica de CD36 y LOX-1 se correlacionó positivamente con la sobreexpresión de IL1beta mientras que la sobreexpresión de SR-A lo hizo negativamente con la sobreexpresión de IL8 y positivamente con la de PPARgamma y NfkbA.

**Conclusión:** La variabilidad inflamatoria podría estar asociada a la respuesta individual del macrófago a LDLox y el tipo de receptor "scavenger" podría determinar la activación del macrófago: más pro-inflamatoria cuando se asocia a CD36 y LOX-1 que cuando se asocia a SR-A.

### EFFECTO DEL AMLODIPINO Y ATORVASTATINA SOBRE LOS NIVELES DE sPLA<sub>2</sub> CIRCULANTE EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLEMICOS

V. Cachafeiro<sup>2</sup>, E. Ibeas<sup>1</sup>, L. Fuentes<sup>1</sup>, M. Hernández<sup>1</sup>, R. Martín<sup>1</sup>, N. de las Heras<sup>2</sup>, M. Miana<sup>2</sup>, V. Lahera<sup>2</sup> y M.L. Nieto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.

Las fosfolipasas A<sub>2</sub> secretadas (sPLA<sub>2</sub>) son enzimas capaces de producir modificaciones covalentes en los lípidos de las lipoproteínas dando lugar a compuestos biológicamente más activos. Estudios recientes han demostrado que tanto sPLA<sub>2</sub> tipo

IIA, como las del grupo V y X pueden presentar un papel crucial en la evolución de la patología aterosclerótica. Numerosos trabajos han puesto en evidencia los llamados efectos pleiotropicos de las estatinas reduciendo los niveles plasmáticos de marcadores de la inflamación, como CPR o sPLA<sub>2</sub> tipo IIA. Sin embargo, aunque los calcioantagonistas también ejercen efectos beneficiosos sobre el desarrollo aterogénico, se desconoce su papel sobre estos factores.

**Objetivo:** Analizar el impacto del tratamiento crónico con atorvastatina y amlodipino sobre los niveles de sPLA<sub>2</sub> circulante en conejos hipercolesterolemicos.

**Métodos:** Se utilizaron conejos New Zealand alimentados con una dieta rica en colesterol (1%), tratados o no con amlodipino (1 mg/kg/día), atorvastatina (1 mg/kg/día) o la combinación por 10 semanas. Tras el tratamiento se evaluó la actividad plasmática de la sPLA<sub>2</sub>, mediante un kit comercial (Cayman). Asimismo, mediante ensayo in vitro, valoramos la acción directa de los fármacos sobre la actividad enzimática de sPLA<sub>2</sub>.

**Resultados:** Únicamente la administración de atorvastatina, previno el aumento de los niveles de triglicéridos, colesterol total y LDL-colesterol inducidos por la dieta. No se observaron cambios en los niveles de presión arterial, ni con la dieta ni con los tratamientos farmacológicos. El tratamiento con amlodipino o atorvastatina sí previno el aumento de la sPLA<sub>2</sub> circulante observado en los conejos sometidos a dieta rica en colesterol, sin que se aprecien efectos directos de los fármacos sobre la actividad enzimática. La combinación de los fármacos no produjo ningún efecto aditivo sobre estos parámetros.

**Conclusiones:** La atorvastatina y amlodipino presentan efectos beneficiosos comparables en la reducción de los niveles de la sPLA<sub>2</sub>, sin que tenga lugar ninguna sinergia entre ambos.

### EL GENOTIPO DE QUITOTRIOSIDASA SE ASOCIA CON LA RESPUESTA INMUNE A LDL OXIDADA EN LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

A. Cenarro<sup>5</sup>, G. Tringali<sup>2</sup>, P. Martín Fuentes<sup>4</sup>, A.L. García Otín<sup>4</sup>, P. Calmarza<sup>5</sup>, J.A. Rodríguez García<sup>1</sup>, E. Ros<sup>6</sup>, S. Musumeci<sup>3</sup> y F. Civeira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>CIMA-Universidad de Navarra. Pamplona. <sup>2</sup>Institute of Medical and Environmental Research. <sup>3</sup>University of Sassari. <sup>4</sup>Hospital Universitario Miguel Servet, I+CS. <sup>5</sup>Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. <sup>6</sup>Hospital Clínic. Barcelona.

**Objetivo:** La hipercolesterolemia familiar (HF) está causada por defectos en el gen del LDLR. Las elevadas concentraciones plasmáticas de colesterol LDL dan lugar a la formación de LDL oxidada (LDLox), que será captada por los macrófagos, dando lugar a la célula espumosa, fundamental en el desarrollo de aterosclerosis. La enzima quitotriosidasa (Chit), la principal proteína producida por los macrófagos activados, está involucrada en la extensión y pronóstico de la lesión aterosclerótica. El gen CHIT1 es polimórfico, existiendo un alelo defectuoso con una frecuencia de 0,20. Nuestro objetivo fue evaluar si el genotipo y la actividad de Chit podrían estar involucrados en la respuesta inmune frente a LDLox.

**Métodos:** Se seleccionaron 229 sujetos con HF (30-70 años), en los que se determinó: perfil lipídico, actividad Chit, genotipo CHIT1, citoquinas inflamatorias (IL6, IL8, TNFalfa), triptasa, PCR-us, IgE y anticuerpos anti-LDLox.

**Resultados:** Los sujetos homocigotos para el alelo normal (NN) tenían más xantomas tendinosos y cifras más altas de colesterol total y LDL que los portadores del alelo defectuoso (P < 0,05). Asimismo, la prevalencia de sujetos con anticuerpos anti-LDLox positivos (> 20 EU/mL) fue mayor en el grupo NN que en el de alelos defectuosos (P < 0,0001). Los sujetos con anti-

cuerpos anti-LDLox > 20 EU/mL presentaron mayor actividad Chit ( $P < 0,001$ ) y concentraciones más bajas de IL6 ( $P = 0,05$ ).

**Conclusión:** El genotipo CHIT1 y la actividad Chit están involucrados en la respuesta inmune a LDLox, y podrían explicar, al menos en parte, la diferente expresión fenotípica e inflamatoria entre individuos con HF.

### VALORACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR Y ECOGRAFÍA CAROTÍDEA EN UNA POBLACIÓN DE ENFERMOS CON ENFERMEDADES AUTOINMUNES

M. Franco Peral, J.A. Arroyo, L. Matas, B. Nishishinya, C. Geli, C. Díaz Torne, J.M. Arroyo y C. Díaz López

*Servei de Medicina Interna. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.*

**Introducción:** Padecer una enfermedad autoinmune representa un factor de riesgo independiente de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular.

**Objetivos:** Describir la presencia de placas carotídeas y los parámetros clínico-bioquímicos de riesgo cardiovascular en una muestra de pacientes con esclerodermia(ES), síndrome de Sjögren primario (SS) y lupus eritematoso sistémico (LES)

**Material y métodos:** Se recogieron datos demográficos, clínicos y analíticos tanto de la enfermedad de base como de riesgo cardiovascular. mujeres = 98%. Se midieron las placas carotídeas mediante ecografía (TOSHIBA, sonolayer SSH-140<sup>o</sup>). Para clasificar los datos ecográficos se utilizó la clasificación "Ultrasonic biopsy" (U-B)<sup>1</sup>: A) normal, B) cambios en la capa íntima con media intacta, C) granulación de la capa íntima-media, D) placa sin alteración hemodinámica, E) placa que produce estenosis y F) placa sintomática. Los pacientes clasificados en los grupos D-F presentan un aumento del riesgo de padecer un evento cardiovascular. Los pacientes del grupo C pueden evolucionar a los grupos D-F, al A-B o mantenerse en el mismo grupo.

**Resultados:** Ver tabla adjunta.

Un 70% de los pacientes con ES y SS y un 79% de los pacientes con LES no presentan alteraciones en la ecografía de arteria carótida común. Un 27, 30 y 21% de los pacientes de los tres grupos estaban clasificados en el grupo C. Un único paciente con LES (3,3%) estaba clasificado en el grupo E.

	ES	SS	LES
n	30	30	29
Edad	60 ± 14a	65 ± 9a	51 ± 15a
Fumad.	1 (3,3%)	1 (3,3%)	12 (45%)
Ex Fumad.	3 (10%)	3 (10%)	2 (7%)
Ant. Fam.	3 (10%)	3 (10%)	6 (22%)
Ant. Pers.	1 (3,3%)	0	3 (11%)
HTA	7 (23%)	6 (20%)	7 (25%)
IMC 25-30	14 (47%)	17 (57%)	14 (52%)
IMC > 30	7 (23%)	8 (26%)	6 (22%)
Cint. > 88cm	12 (40%)	17 (57%)	11 (42%)
Col > 240mg/dl	14 (47%)	9 (30%)	7 (25%)
HDL > 45 mg/dl	4 (13%)	29 (96%)	8 (29%)
LDL > 160 mg/dl	10 (33,3%)	6 (21%)	6 (22%)
TGL > 200 mg/dl	1 (3%)	0	3 (11%)
LPa > 300 mg/dl	10 (37%)	10 (37%)	11 (42%)
Homocist 14,4 mmol/L	7 (23%)	4 (15%)	2 (8%)
Fibrin > 4 g/L	6 (25%)	7 (32%)	10 (42%)
PCR > 5 g/l	6 (20%)	9 (31%)	7 (26%)
VSG > 20 mm/h	9 (31%)	19 (63%)	7 (25%)

Trabajo realizado gracias a una beca de Pfizer SA.

**Conclusiones:** Los factores de riesgo cardiovascular en nuestros pacientes son bastante similares. Destaca el elevado número de fumadores en el grupo de LES, la hipercolesterolemia y el elevado perímetro de cintura en el grupo ES y los bajos niveles de HDL en el grupo SS. Entre un 70 y un 79% de los pacientes presentó una ecografía normal, datos que son superiores a los de nuestra población con artritis reumatoide (Normal = 55%)

### EL POLIMORFISMO RS1799986 DEL GEN LRP1 MODULA EL METABOLISMO POSTPRANDIAL DE LOS QUILOMICRONES

M.J. Gómez Luna, Y. Jiménez, A. García, J.M. Quintana, A. Lozano, E. Yubero, F. Fuentes y J. López Miranda

*Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Medicina Interna. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.*

**Introducción:** La proteína LRP1, uno de los receptores relacionados con los LDLR, está involucrada en el aclaramiento postprandial de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Se ha descrito que los polimorfismos en el gen LRP1 constituyen un factor de riesgo para un desarrollo prematuro de enfermedad cardiovascular.

**Objetivo:** Estudiar el efecto del polimorfismo rs1799966 en el gen LRP1 sobre el metabolismo lipoproteico postprandial en individuos sanos.

**Metodología:** 88 voluntarios sanos Apo E3E3 (42 CC, 37 TC y 9 TT) fueron sometidos a un test de sobrecarga oral de grasa que consistió en 1 g de grasa por Kg de peso corporal y 60.000 UI de vitamina A x m<sup>2</sup> de superficie corporal. Se realizaron extracciones en el tiempo 0 y cada hora, hasta la hora 6<sup>a</sup> y cada 2 horas y media hasta las 11 horas. Se determinó: colesterol (C), triglicéridos (T), C-HDL, C-LDL, Apo A1 y ApoB plasmáticos, así como el C, T, Apo B100, Apo B48 y retinil palmitato (RP) en las lipoproteínas ricas en triglicéridos (TRL grandes y pequeñas).

**Resultados:** Los individuos homocigotos TT presentaron una mayor respuesta postprandial en los niveles de colesterol, retinil palmitato y Apo B100 vehiculizados en las TRL-grandes ( $p < 0,05$ ), cuando se compararon con los participantes portadores del alelo C. Además, los homocigotos TT mostraron mayores niveles de C-LDL en plasma y de colesterol en las TRL-pequeñas, independientemente de la respuesta postprandial ( $p < 0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas con el resto de los parámetros estudiados.

**Conclusión:** Los resultados obtenidos sugieren que el polimorfismo rs1799986 en el gen de la LRP1 modifica la respuesta postprandial en personas sanas, de forma que los individuos con el genotipo TT podrían tener un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares.

### LA EXPRESIÓN DE PRPC SE ASOCIA CON MICROVASOS ACTIVOS EN LESIONES AVANZADAS DE CARÓTIDA HUMANA

M.M. Turu<sup>1</sup>, M. Slevin<sup>2</sup>, P. Ethirajan<sup>2</sup>, M.A. Font<sup>1</sup>, F. Rubio<sup>1</sup>, L. Badimon<sup>1</sup> y J. Krupinski<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Hospital Universitario de Bellvitge (HUB), Fundació IDIBELL, Centro de Investigación Cardiovascular CSIC-ICCC. <sup>2</sup>Manchester Metropolitan University.*

**Antecedentes:** La proteína celular priónica normal (PrPc) tiene múltiples funciones fisiológicas y se expresa en una gran variedad de células del sistema inmune y en células endoteliales. En este último tipo celular, se cree que PrPc participa en diferenciación celular.

**Objetivos:** Nuestro objetivo fue estudiar la expresión local y sistémica de PrPc en lesiones avanzadas de carótida e identificar su relación con las regiones activas de estas placas donde se desencadena la activación de la angiogénesis.

**Métodos:** La expresión de PrPc se examinó mediante el uso de un ensayo enzimático inmunométrico, en muestras de plasma de pacientes con enfermedad carotídea avanzada. Además también se usaron muestras de carótida obtenidas mediante endarterectomía carotídea y como controles muestras de arteria carótida con aspecto normal obtenidas de transplantes vasculares. En todas ellas se analizó la expresión de PrPc y CD105 (endoglina), un marcador de células endoteliales activas, mediante Western blot e inmunohistoquímica y PCR a tiempo real.

**Resultados:** Los pacientes con enfermedad carotídea mostraron unos niveles significativamente más elevados de PrPc plasmático que los mostrados por el grupo control 4,35 ng/ml (n = 22; 3,1-5,3) vs. 1,95 ng/ml (n = 21 1,1-2,5), p < 0,001. Las placas positivas para CD105 mostraron una sobreexpresión de PrPc y además, se observó un fuerte marcaje de PrPc mediante inmunohistoquímica en neovasos de la íntima, en la cubierta fibrosa de estas lesiones y en células inflamatorias infiltradas de lesiones que mostraban evidencia de rotura de la placa y procesos de trombosis. Mediante PCR a tiempo real se demostró una alta correlación entre los niveles de ARN mensajero de CD105 y PrPc (p < 0,001; r = 0,7) igual que en los ensayos de inmunohistoquímica y Western blot.

**Conclusiones:** Se observó expresión de PrPc en lesiones ateroscleróticas avanzadas de carótida pudiendo estar relacionada con el mecanismo de activación de la angiogénesis en estas placas ateroscleróticas.

### EL POLIMORFISMO -174G/C DEL GEN DE LA IL-6, DETERMINA LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE IL-6

Y. Jiménez Gómez, M.J. Gómez, A. Gallego, J. Criado, C. Marín, J.A. Paniagua, M. López Miranda y F. Pérez Jiménez

Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Medicina Interna. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

La inflamación juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad arteriosclerótica, y determinados marcadores inflamatorios como los niveles interleucina-6 (IL-6) son factores de riesgo independientes para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. El objetivo de nuestro estudio fue analizar si la presencia del polimorfismo -174G/C, en la región promotora del gen de la IL-6, modula las modificaciones en los niveles plasmáticos tras cambios del tipo de ácidos grasos de la dieta.

**Metodología:** Veinte hombres sanos (12 CC y 8 CG) recibieron tres dietas con diferente composición grasa durante 4 semanas, en un diseño randomizado y cruzado. La composición de las mismas fue: Rica en grasa saturada (SAFA) 38% grasa (22% SAFA); Mediterránea rica en MUFA, 38% grasa (24% MUFA); rica en HC y PUFA n-3 de origen vegetal < 30% grasa (8% PUFA). Al final de cada período de dieta se determinaron los nivel plasmáticos de IL-6 en ayunas y tras la ingesta (a las 3 y 9 horas) de una comida estandarizada rica en grasa con la misma composición grasa de la dieta consumida.

**Resultados:** Las personas portadoras del genotipo CC presentaron mayores niveles plasmáticos de IL-6 independientemente del tipo de dieta, en comparación con los heterocigotos CG. Sin embargo, no se observó efecto de la interacción entre genotipo-dieta. La ingesta de la sobrecarga grasa determinó un

aumento de los niveles de IL-6 igual con las tres dietas administradas, aunque tras el consumo de la comida rica en mantequilla se observó una tendencia hacia una mayor respuesta postprandial en los portadores del genotipo CG comparados con los portadores del genotipo CC.

### LOS POLIMORFISMOS i19342 Y e298d DEL GEN DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA REGULAN PARCIALMENTE LA RESPUESTA POSTPRANDIAL DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL TRAS UNA SOBRECARGA CON GRASA SATURADA EN VARONES SANOS

F.J. Delgado Lista<sup>1</sup>, J. Ruano Ruiz<sup>1</sup>, P. Pérez Martínez<sup>1</sup>, E. Galan Dorado<sup>1</sup>, L. Parnell<sup>2</sup>, R. Moreno<sup>1</sup>, J.M. Ordoñas<sup>2</sup>, J. López Miranda y F. Pérez Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. <sup>2</sup>HNRCa at Tufts University. Boston.

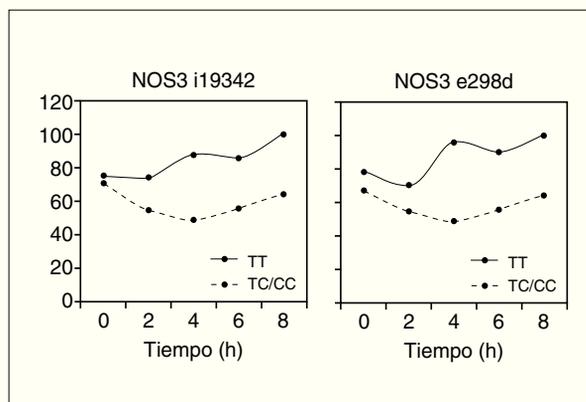
**Introducción:** La disfunción endotelial constituye la primera manifestación clínica de la arteriosclerosis. Se ha demostrado que la ingesta de una comida grasa induce un deterioro transitorio de la función endotelial. Sin embargo, quedan por definir los determinantes que regulan este proceso.

**Objetivo:** Determinar si las variaciones genéticas del gen de la óxido nítrico sintasa (NOS) influyen en la función endotelial microvascular postprandial.

**Material y métodos:** Cuarenta varones sanos fueron genotipados para los polimorfismos NOS3 i19342 y e298d mediante PCR a tiempo real (Taqman). Los participantes recibieron una comida con 1 gr. de grasa y 7 mg de colesterol por kilo de peso y 60.000 unidades de vit A por m<sup>2</sup> de superficie corporal. La composición de la grasa contenida en la comida fue: SAT: 35%; MONO: 19%; PUFA: 6,3%. Se midió la función endotelial microvascular mediante laser-doppler a las horas 0, 2, 4, 6 y 8. Para valorar diferencias entre genotipos se utilizó ANOVA para medidas repetidas y T- Student del Area bajo la curva.

**Resultados:** La frecuencia genotípicas fueron de 16TT, 18TC y 6 CC para NOS3 i19342 y de 10GG, 24GT y 6TT para NOS3 e298d. Los portadores del alelo C para i19342 y del alelo T para e298d tuvieron una peor respuesta endotelial microvascular que los homocigotos para los alelos más frecuentes (i19342, p = 0,036; e298d, p = 0,049).

**Conclusión:** Este estudio demuestra la regulación de la función endotelial postprandial por dos polimorfismos del gen de la NOS y puede identificar a una población sometida a un mayor riesgo cardiovascular.



### EL POLIMORFISMO -308G/A, EN EL GEN DEL TNF-alfa DETERMINA LOS CAMBIOS EN LOS NIVELES DE TNF INDUCIDOS POR LA DIETA

C. Marín, R. Gallego, E. Galán, J. Criado, M.J. Gómez, J.A. Paniagua, F. Fuentes y J. López Miranda

Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Medicina Interna. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

La arteriosclerosis, representa una serie de respuestas celulares y moleculares altamente específicas, las cuales pueden ser descritas como una enfermedad inflamatoria. La ingesta de una comida determina un estado pro oxidativo que favorece un aumento de los marcadores inflamatorios y una disfunción endotelial, todos ellos factores asociados con el desarrollo de la arteriosclerosis. El objetivo de nuestro estudio fue analizar si la presencia del polimorfismo -308G/A, en el gen del TNF-alfa, modula las modificaciones en los niveles plasmáticos tras cambios del tipo de ácidos grasos de la dieta.

**Metodología:** Veinte hombres sanos (10 AA y 10 AG) recibieron tres dietas con diferente composición grasa durante 4 semanas, en un diseño randomizado y cruzado. La composición de las mismas fue: Rica en grasa saturada (SAFA) 38% grasa (22% SAFA); Mediterránea rica en MUFA, 38% grasa (< 10% SAFA, 24% MUFA); rica en HC y PUFA n-3 de origen vegetal < 30% grasa (< 10% SAFA, 8% PUFA, 12% MUFA). Después de 12 horas de ayunas se les determinó los nivel plasmáticos de TNF- $\alpha$ , y tras la ingesta (a las 3 y 9 horas) de una comida estandarizada rica en grasa con la misma composición.

**Resultados:** Las personas portadoras del genotipo AA no presentaron cambios en los niveles plasmáticos de TNF-alfa cuando consumieron los tres tipos de dieta. Sin embargo, los voluntarios portadores del genotipo AG presentaron un descenso significativo en los niveles de TNF tras el consumo de la dieta pobre en grasa y rica en n-3 de origen vegetal. No se observaron diferencias en la respuesta postprandial de TNF entre los diferentes tipos de dieta y genotipos estudiados.

**Conclusión:** El polimorfismo en el gen del TNF-alfa determina los cambios en los niveles plasmáticos de TNF inducidos por la dieta rica en n-3 de origen vegetal.

### LA INSULINA INDUCE LA PROLIFERACIÓN Y LA SECRECIÓN DE MMP9 EN MONOCITOS MEDIANTE LA ACTIVACIÓN DE LA NADPH OXIDASA

G. San José Enériz, J. Bidegain Aizpún, P. Robador Llorente, J. Díez Martínez, A. Fortuño Gil y G. Zalba Goñi

Área de Ciencias Cardiovasculares. Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona.

La hiperinsulinemia favorece el desarrollo de la aterosclerosis. El estrés oxidativo asociado a la activación de la NADPH oxidasa es un mecanismo crucial en este proceso.

**Objetivo:** Consistió en analizar si el fenotipo proaterogénico que la insulina induce en monocitos esta mediado por la activación de la NADPH oxidasa.

En experimentos *in vitro*, la insulina aumentó la secreción de metaloproteína 9 (MMP9) en monocitos humanos e incrementó la proliferación en macrófagos murinos (Raw 264,7). Estos efectos desaparecieron en presencia de la apocinina, un inhibidor específico de la NADPH oxidasa. De hecho, la insulina incrementó la producción de anión superóxido en los monocitos humanos y en las células Raw 264,7. La activación de la NADPH oxidasa inducida por la insulina se previno al bloquear las vías de PI3K y de PKC con wortmanina y bisindolilmalenide I, respectivamente. Además, la estimulación de la NADPH oxidasa inducida por la insulina activaba las vías de

NF $\kappa$ B, p38MAPK y ERK 1/2. Mas aún, el uso de inhibidores específicos de las vías de NF $\kappa$ B (PDTC), p38MAPK (PD 98059) y ERK 1/2 (SB 203580) inhibió el efecto estimulador de la insulina sobre la proliferación y la secreción de MMP9.

**Conclusión:** La insulina induce la secreción de MMP9 y la proliferación en monocitos/macrófagos. Estos efectos son mediados por la activación de la NADPH oxidasa. Nuestros resultados sugieren nuevos mecanismos por los que la hiperinsulinemia puede favorecer proceso aterogénico en pacientes con resistencia a la insulina.

### MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN SUJETOS CON HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA

S. Martínez Hervás<sup>2</sup>, T. Pedro<sup>2</sup>, R. Zaragoza<sup>1</sup>, A.B. García García<sup>2</sup>, F.J. Chaves<sup>2</sup>, J.T. Real<sup>2</sup>, J.F. Ascaso<sup>2</sup>, J. Viña<sup>1</sup> y R. Carmena<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Valencia. <sup>2</sup>Hospital Clínico Universitario de Valencia.

**Objetivo:** Identificar marcadores de inflamación implicados en la patogenia de la arteriosclerosis en sujetos con hiperlipemia familiar combinada (HFC), un modelo de dislipemia primaria con desarrollo de arteriosclerosis precoz.

**Sujetos y métodos:** Se han estudiado 24 sujetos sanos normolipidémicos (edad media 37,69 años) y 42 sujetos con HFC (edad media 44,92 años). En todos ellos se midió: perímetro de cintura, IMC, perfil lipídico y marcadores plasmáticos de inflamación (NF- $\kappa$ B, IL-1, IL-6 y PCRas) con métodos estandarizados.

**Resultados:** Encontramos diferencias estadísticamente significativas en el perímetro de la cintura ( $86,6 \pm 10,79$  vs  $93,33 \pm 13,28$  cm), colesterol total ( $185,91 \pm 31,63$  vs  $269,32 \pm 77,42$  mg/dl), TG ( $99,70 \pm 45,21$  vs  $307,55 \pm 281,38$  mg/dl), cHDL ( $47,00 \pm 8,52$  vs  $40,40 \pm 8,61$  mg/dl), cLDL ( $119,04 \pm 25,25$  vs  $176,25 \pm 60,15$  mg/dl), apo B ( $85,12 \pm 16,32$  vs  $127,10 \pm 28,67$  mg/dl) e insulinemia ( $7,64 \pm 4,88$  vs  $14,86 \pm 7,54$ ). Dentro de los parámetros que indican mayor inflamación, fueron significativamente mayores en sujetos con HFC: NF- $\kappa$ B ( $37,94 \pm 12,53$  vs  $90,73 \pm 43,24$ ) e IL-6 ( $60,49 \pm 13,03$  vs  $70,49 \pm 12,22$ ). Estas diferencias se mantienen al corregir por el perímetro de cintura.

**Conclusión:** Los sujetos con HFC presentaron mayor grado de inflamación que los controles. Esta mayor inflamación podría contribuir a incrementar el desarrollo de arteriosclerosis en este modelo de dislipemia con alto riesgo cardiovascular.