

## Nuevos métodos diagnósticos para la identificación de la placa aterosclerótica vulnerable: estudio clínico y experimental

J.A. Páramo<sup>1</sup>, G. Sánchez-Elvira<sup>2</sup>, J. Calabuig<sup>2</sup>, I. Coma-Canella<sup>2</sup>, M. Belzunce<sup>1</sup>, J.A. Rodríguez<sup>1</sup>

1. Laboratorio de aterosclerosis. Area de Ciencias Cardiovasculares. CIMA

2. Departamento de Cardiología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

### FUNDAMENTO

La ruptura de una placa aterosclerótica seguida de trombosis (aterotrombosis) es responsable de síndromes clínicos como el infarto agudo de miocardio. La identificación del paciente vulnerable, es decir aquel con mayor riesgo de ruptura, permitirá la identificación precoz de sujetos con mayor predisposición para el desarrollo de aterotrombosis. La combinación de nuevas técnicas de imagen y nuevos biomarcadores (bioimagen) puede ser de utilidad en sujetos con placas vulnerables antes de que presenten el cuadro clínico trombotico. Se diseñó un estudio clínico y experimental en el que se plantearon los siguientes objetivos:

a) Caracterizar a nivel clínico de las placas ateroscleróticas vulnerables mediante la combinación de nuevas técnicas de imagen (invasiva y no invasiva).

b) Evaluar la utilidad de biomarcadores clásicos de riesgo cardiovascular y de nuevos biomarcadores proteolíticos asociados con vulnerabilidad.

c) Correlacionar biomarcadores con técnicas de imagen.

d) Examinar el papel fisiopatológico de las metaloproteasas (MMPs) en un modelo experimental de ruptura de la placa aterosclerótica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

A) *Estudio clínico.* Se analizaron pacientes con síndromes coronarios sometidos a angiografía. Se caracterizaron las lesiones con nuevas técnicas de imagen incluyendo ultrasonido intravascular e histología virtual (IVUS-VH) y tomografía de coherencia óptica (OCT), para detectar características de vulnerabilidad: fibroateroma de cápsula fina (TCFA), núcleo necrótico, calcificación y estenosis. Se evaluaron los factores tradicionales de riesgo vascular y se realizó un perfil bioquímico incluyendo parámetros inflamatorios (Proteína C-reactiva).

Se obtuvieron muestras de sangre de todos los pacientes para la determinación de marcadores proteolíticos, con énfasis en metaloproteinasas (MMPs), proteínas que degradan la matriz extracelular (MMP-3 y MMP-10).

B) *Estudio experimental.* Se desarrolló un modelo experimental de ruptura de la placa de ateroma (ligadura y cuff) en ratones deficientes en apolipoproteína E para analizar las características histológicas de la lesión aterosclerótica (contenido de colágeno, tinción de elásticas, tinción de hierro, proteolisis, etc). Se establecieron dos grupos: control y tratados con GM6001, un inhibidor de amplio espectro de MMPs. Se determinó la presencia de hemorragia intraplaca, como marcador de vulnerabilidad y se evaluó el efecto de GN6001 sobre la misma.

### RESULTADOS

A) *Estudio clínico.* Se analizaron 46 lesiones en pacientes con cardiopatía isquémica (18 angina estable y 7 síndromes coronarios agudos). El IVUS-VH detectó núcleo necrótico significativo en 15; la OCT detectó fibroateroma de cápsula fina en 10 lesiones, erosión en 6, trombo en 5 y nódulo calcificado en 8. Se observó correlación entre el core necrótico, el índice de masa corporal y los niveles de proteína C-reactiva. Las concentraciones de MMP-3 se asociaron con la presencia de nódulo cálcico. Se observó correlación de MMP-10 con TCFA.

B) *Estudio experimental.* Se analizaron las lesiones inducidas por la ligadura y cuff en ratones deficientes en apolipoproteína E, observado la presencia de trombosis en el 100% de lesiones analizadas, así como hemorragia intraplaca. Un inhibidor de MMPs, el GM6001, redujo significativamente la presencia de hemorragia intraplaca, un marcador clásicamente asociado con vulnerabilidad, demostrado por la disminución de los depósitos de hierro. Los resultados indican que la inhibición de MMPs puede resultar una estrategia útil para prevenir la ruptura de la placa.

## CONCLUSIONES

A) El empleo de nuevas técnicas de imagen coronaria, como IVUS-VH y OCT permite definir características de vulnerabilidad no proporcionadas por la coronariografía convencional: core necrótico, fibroateroma de cápsula fina, erosión, trombosis). La combinación de estas técnicas ha permitido definir características de vulnerabilidad en el 50% de los pacientes. La combinación

de nuevos biomarcadores (MMPs) con las técnicas de imagen (bioimagen) puede ser de utilidad para la identificación del paciente vulnerable.

B) La administración de un inhibidor de amplio espectro de MMPs consiguió una reducción significativa de la hemorragia intraplaca, un marcador establecido de vulnerabilidad, por lo que podría representar una nueva estrategia terapéutica en la aterosclerosis.

---

## Regulación de la expresión génica por corte y empalme alternativo en la carcinogénesis pulmonar. Papel de hnRNP A1 y ASF/SF2

**M.J. Pajares Villandiego**

Fundación para la investigación biomédica (FIMA). Pamplona

### FUNDAMENTOS

El cáncer de pulmón es la neoplasia con mayor tasa de mortalidad en los países occidentales; esta tasa no ha disminuido significativamente en las últimas tres décadas. Estos datos indican que se requiere urgentemente el desarrollo de nuevas herramientas moleculares para el diagnóstico precoz y la terapia de esta enfermedad. Para ello es imprescindible conocer los mecanismos moleculares asociados a la transformación neoplásica de las células pulmonares y a su progresiva adquisición del fenotipo invasivo.

Durante los últimos años, la regulación del metabolismo del RNA (splicing, transporte, localización, estabilización, degradación y traducción) ha cobrado gran importancia como punto clave en el control de la expresión génica. En cáncer de pulmón, diversos trabajos han señalado la importancia de la regulación de la expresión génica a nivel del RNA; y además, han descrito la alteración de proteínas unificadoras de RNA, responsables de la regulación y coordinación de estos procesos en diferentes tipos de neoplasias. ASF/SF2 y hnRNP A1 son dos factores de splicing que actúan en la regulación del metabolismo de RNA. Concretamente la abundancia relativa de ASF/SF2 y hnRNP A1 en núcleo y/o citoplasma puede determinar que la regulación se realice de una u otra manera. Además se han visto cambios en la expresión de estas dos proteínas en diferentes neoplasias humanas, incluyendo el cáncer de pulmón.

En este estudio se pretende esclarecer el papel que juega la alteración de la regulación del metabolismo del RNA, especialmente del proceso de corte y empalme alternativo en la carcinogénesis pulmonar con el fin de diseñar nuevas estrategias de pronóstico, diagnóstico y/o terapia.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se ha analizado la expresión proteica de ASF/SF2 y hnRNP A1 en una amplia serie de muestras de tumores no microcíticos de pulmón mediante técnicas inmunocitoquímicas. Se utilizó un inmunotendón automático y los anticuerpos utilizados se describen a continuación: hnRNP A1 (G. Dreyfuss) dilución 1:12.000; ASF/SF2 (Zymed) 1:75. Para la valoración de las técnicas inmunocitoquímicas se realizó una semicuantificación de la extensión del marcaje y de la intensidad. Se aplicó la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para evaluar las diferencias en la expresión de ASF/SF2 y hnRNP A1 entre el tejido normal y el tejido tumoral.

Además se han generado modelos de inhibición de ASF/SF2 y de hnRNP A1 utilizando la tecnología de los RNAs de interferencia y se han evaluado los efectos de estas inhibiciones en la proliferación (ensayos del MTT y citometría de flujo) y la apoptosis (citometría de flujo y Western Blot para caspasa-3, Cell signalling, dilución 1:2000). También se han analizado por RT-PCR algunos posibles genes cuyo splicing alternativo resulta modificado tras la alteración del balance de hnRNP A1 y ASF/SF2.

En el caso de ASF/SF2 se ha evaluado su expresión y la de survivina en el modelo de inhibición, en las líneas celulares y en los tumores de pulmón mediante Western blot (ASF/SF2 1:20.000; survivina (Cell Signalling), 1:2000) e inmunocitoquímica (ASF/SF2 1:75; survivina 1:2000). Se han realizado ensayos de estabilidad y se ha analizado la vía de mTOR para deducir el mecanismo por el que ASF/SF2 está regulando survivina. Finalmente se ha estudiado la asociación entre la expresión de estas proteínas y el

tiempo a progresión mediante curvas de Kaplan Meier y los test de log rank.

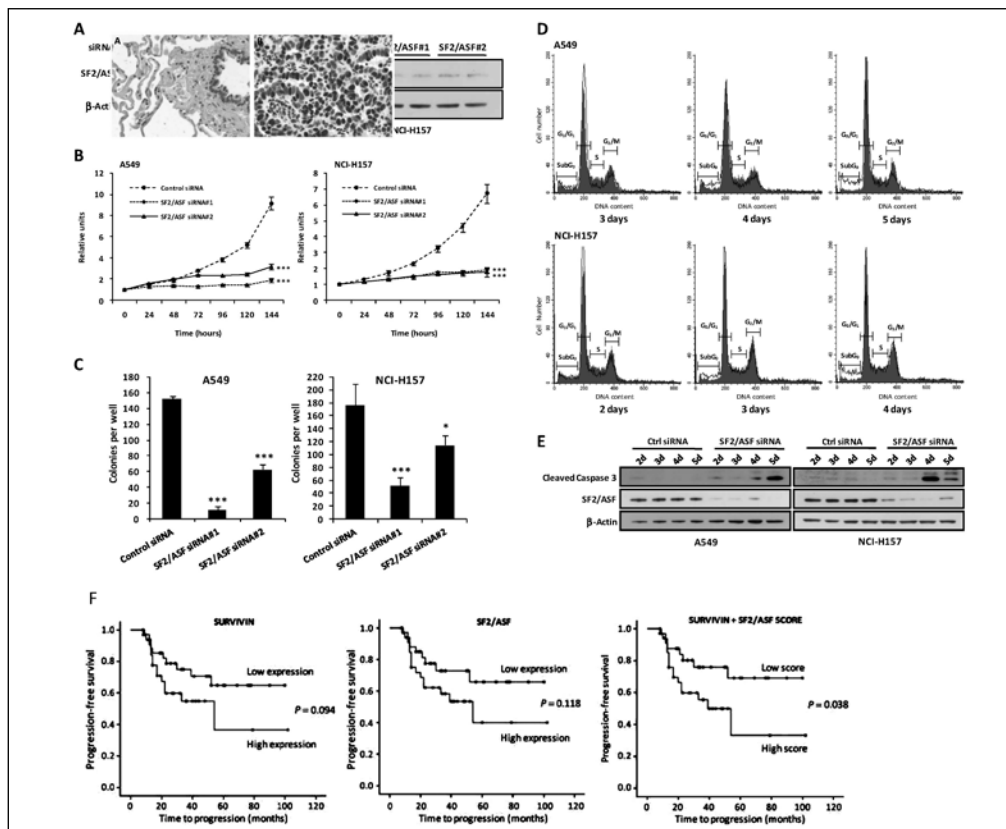
En el caso de hnRNP A1 se ha analizado su expresión, la de STAT3 y la de fosfo-STAT 3 en el modelo de inhibición, en las líneas celulares y en los tumores de pulmón mediante Western blot (hnRNP A1 1:40.000; STAT 3 (Cell Signalling) 1: 2000 y fosfoSTAT 3 (Cell Signalling) 1: 2000) e inmunocitoquímica hnRNP A1 1:8000; STAT 3 y fosfoSTAT 3 1: 100). Se han realizado ensayos de crecimiento en placas de baja adherencia y posterior Western blot para analizar cómo afecta la inhibición de hnRNP A1 a la actividad y la expresión de STAT3.

**RESULTADOS**

Los carcinomas no microcíticos de pulmón presentan un aumento altamente significativo de ASF/SF2 y hnRNP A1 con respecto al tejido normal ( $p < 0,001$ ) (Fig. 1A).

La inhibición de ASF/SF2 provocó una disminución altamente significativa en la tasa de proliferación celular ( $p < 0,001$ ) en las dos líneas celu-

lares estudiadas (Fig. 1B y 1C), esta disminución de la proliferación era debida a una parada del ciclo celular en la fase G0/G1, y posterior efecto pro-apoptótico y/o necrótico (Fig. 1D). Además, la inhibición de ASF/SF2 produjo un aumento en la activación de caspasa 3 lo que demostraba la entrada en apoptosis de estas células (Fig. 1E). El análisis de los patrones de splicing alternativo de diferentes genes implicados en el proceso apoptótico no aportó mucha información acerca del mecanismo por el que la inhibición de ASF/SF2 estaba regulando el proceso; sin embargo en este ensayo se observó una notable disminución en la isoforma principal de la proteína anti-apoptótica survivina. Esta correlación entre los niveles de ASF/SF2 y survivina se observó también en las líneas celulares y en las muestras humanas. Además, la expresión conjunta de ambas proteínas tenía valor pronóstico en las muestras humanas de carcinomas no microcíticos (Fig. 1F). Se estudió, además, el mecanismo por el que ASF/SF2 regulaba la expresión de survivina y se ha visto que este factor de splicing regula tanto su traducción vía mTOR como su estabilidad.



**Figura 1.** La inhibición de ASF/SF2 detiene la proliferación celular e induce apoptosis en líneas celulares de cáncer de pulmón. A. Inmunocitoquímica de tejido normal y tumoral. B. Curvas de proliferación. C. Crecimiento dependiente de anclaje. D. Distribución del ciclo celular. E. Western de caspasa 3 activa. F. Curvas de Kaplan Meier para la supervivencia libre de progresión en pacientes con alta o baja expresión de ASF/SF2, survivina y la combinación de ambas.

La inhibición de hnRNPA1 provocó efectos heterogéneos en la proliferación de las células tumorales, tampoco se vieron diferencias claras entre las fases del ciclo celular, ni diferencias en activación de caspasa 3, por lo que dedujimos que la inhibición de esta proteína no tenía efectos en el crecimiento dependiente de anclaje ni en la apoptosis. Sin embargo se observó un aumento significativo en el número de clones formados en las líneas celulares donde se había inhibido hnRNPA1 con respecto a las células control. Con objeto de determinar la causa por la que la disminución de la expresión de hnRNPA1 producía un aumento en la capacidad de crecimiento independiente de anclaje, se estudió la expresión del gen STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), un factor de transcripción se ha asociado con un aumento de la invasión y la metástasis. La disminución de hnRNPA1 en condiciones de independencia de anclaje

producían un aumento de STAT3 y también de su activación. Sin embargo estos resultados no pudieron ser corroborados en las biopsias humanas, ya que no se observaba asociación alguna entre los niveles de hnRNPA1 y los niveles de STAT3 o de fosfoSTAT3.

## CONCLUSIÓN

Este trabajo proporciona datos nuevos a cerca del mecanismo por el que las células tumorales aumentan los niveles de survivina a través de la vía mTOR; además es la primera descripción de una relación causal entre un factor de splicing y la survivina. Esta observación es reforzada por la estrecha correlación encontrada entre ASF/SF2 y survivina en carcinomas pulmonares humanos, lo que sugiere que la expresión de la oncoproteína ASF/SF2 podría ser un importante mediador de la sobreexpresión de survivina en tumores.

---

## Nueva estrategia terapéutica para potenciar la radioterapia en cáncer de próstata: inhibición de Poli (ADP-Ribosa) Polimerasa (PARP) y de HIF-1alfa (Factor inducido por hipoxia). Identificación y análisis de biomarcadores de respuesta terapéutica

P.A. Nguewa

### FUNDAMENTO

Los tratamientos actuales contra el cáncer de próstata incluyen cirugía, radioterapia y quimioterapia. El tratamiento mediante radioterapia en tumores localizados es en muchos casos curativo, pero las dosis de radiación utilizadas actualmente pueden causar importantes efectos secundarios. Diversos estudios sugieren que el uso de fármacos potenciadores de radioterapia podría igualar o mejorar la respuesta terapéutica, disminuyendo considerablemente la radiación utilizada y sus efectos secundarios.

Nuestras investigaciones se han centrado entonces en la búsqueda de vías de radiosensibilización en tumores de próstata y pulmón. Exploramos las vías de PARP e HIF-1a, de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/AKT/mTOR, del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1. Líneas celulares

El presente estudio se realizó con líneas celulares humanas de cáncer de próstata PC-3, de

cáncer de pulmón A549, y células endoteliales humanas HUVECs. Todas las líneas celulares fueron obtenidas de la Colección de Cultivos Celulares ATCC (Manassas, VA, EE.UU.)

#### 2. Compuestos antitumorales

Se han evaluado los siguientes compuestos antitumorales: Palomid 529 (P529<sup>®</sup>, Paloma Pharmaceuticals, Jamaica Plain, MA, EE.UU), Lapatinib (GlaxoSmithKline, Brentford, UK).

#### 3. Estudio del ciclo celular

La medida del contenido de DNA mediante el uso de citometría de flujo proporciona información sobre la fase del ciclo en la que se encuentran las células.

Para realizar el estudio del ciclo celular, las células se tripsinizaron y se contaron en una cámara de Neubaüer. Se recogieron  $2 \times 10^5$  células totales y se lavaron con PBS. Se aplicó el protocolo siguiendo las instrucciones del fabricante. El análisis se realizó en el citómetro de flujo FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, EE.UU) y usando el programa *ModFit*, se determinó el porcentaje de células en cada fase del ciclo ( $\text{SubG}_0$ ,  $G_1$ , S o  $G_2$ -M).

#### 4. Cuantificación mediante citometría de células endoteliales circulantes

Se cuantificó mediante citometría de flujo el porcentaje de células endoteliales circulantes (CEPs) en ratones con tumores subcutáneos tratados con los fármacos en estudio. Brevemente, las muestras pre-tratadas fueron incubadas en oscuridad durante 30 min a 4°C con 7-aminoactinomicina-D (7AAD, Sigma-Aldrich Inc., St Louis, MO, EE.UU.), CD45 anti-ratón conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (#BD553080; BD Biosciences, New Jersey, EE.UU.), CD117 anti-ratón conjugado con APC (aloficocianina) y Flk-1/KDR anti-ratón conjugado con PE (R-ficoeritrina) (BD Biosciences). Los resultados fueron representados de acuerdo con los perfiles de distribución celular, incluyendo sólo las células mononucleares y excluyendo células como eventos en doblete, plaquetas, células muertas, o restos (micropartículas). Se cuantificó el número de CEPs (CD45-/CD117+/VEGFR2+) y los resultados se expresaron como porcentaje (número de CEPs por cada cien células viables de sangre total).

#### 5. Estudio actividad metabólica tumoral mediante MicroPET

La actividad metabólica tumoral se analizó mediante PET para pequeños animales *Mosaic* (Philips) con adquisición en modo 3D en la Unidad de Investigación Micro-PET, está constituida como una unidad de apoyo a la investigación con dependencia y del Servicio de Medicina Nuclear de la Clínica Universitaria de Navarra y del CIMA.. El equipo cuenta con 14456 cristales. El campo axial es de 11,9 cm y el transaxial de 12,8 cm, con una resolución de 2 mm y un tamaño de pixel de 1 ó 0,5 mm. Los estudios de microPET aportan un valor añadido en los modelos animales tumorales si se selecciona adecuadamente el radiotrazador, ya que dan una información cuantitativa sobre la actividad tumoral, que no tiene porqué guardar una relación directa con el tamaño tumoral. En nuestro caso se utilizó <sup>18</sup>FDG (glucosa marcada con flúor) y <sup>11</sup>C-Colina; este último presenta una alta afinidad por las células tumorales. El estudio con MicroPET se realizó al finalizar el tratamiento terapéutico antes de proceder al sacrificio de los ratones.

#### RESULTADOS

Por una parte, los resultados obtenidos demostraron que la exposición a la radiación junto con la administración de P529 da lugar a un aumento significativo del porcentaje de células en apoptosis, en comparación con las monoterapias. Nuestros datos demuestran que P529 actúa a través de varias vías de señaliza-

ción (**AKT y Bcl-2/Bax, MMP-2 y -9**) que desencadenan un aumento del efecto terapéutico de la radiación.

Por otra parte, el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y sus receptores (EGFRs) son unas de las dianas terapéuticas más importantes. Participan en el desarrollo tumoral así como en la supervivencia de las células malignas. Hemos demostrado que lapatinib (inhibidor de actividad tirosin-quinasa de EGFR y HER-2) inhibe la proliferación celular en la línea tumoral de pulmón A549. Además causa alteraciones del ciclo celular con arresto de las células en G<sub>1</sub>, reducción de la síntesis de DNA e inducción de la muerte celular en este modelo de cáncer de pulmón. Este fármaco también redujo los niveles de las dos proteínas antiapoptóticas IAP-2 y Bcl-XL, y aumentó los de la proteína proapoptótica Bak-1, promoviendo la apoptosis celular. Finalmente, los datos obtenidos refuerzan la idea que el lapatinib inhibe la angiogénesis y altera el proceso de reclutamiento de CEPs hacia el tumor.

#### CONCLUSIONES

1. P529, un nuevo compuesto inhibidor de Akt, inhibe la proliferación y la capacidad clonogénica e induce apoptosis en células PC-3.

2. P529 potencia el efecto de la radioterapia en células PC-3 in vitro e in vivo, mediante la inhibición de la sobreexpresión de genes de supervivencia celular inducidos por la irradiación, como p-Akt, Id-1, VEGF, MMP-9 y MMP-2. Además, esta combinación reduce la ratio Bcl-2/Bax, promoviendo así la apoptosis.

3. El fármaco lapatinib, inhibidor de EGFR/Her-2, disminuye la proliferación celular y la capacidad clonogénica en células de cáncer de pulmón A549 EGFR/Her-2 positivas. El bloqueo de EGFR/Her-2 por lapatinib reduce los niveles de las proteínas p-Erk, c-myc, PCNA e induce apoptosis in vivo.

4. Lapatinib reduce significativamente la actividad metabólica tumoral de células A549 implantadas subcutáneamente en ratones, pero en combinación con radioterapia produce una disminución no significativa estadísticamente del volumen tumoral y no mejora el efecto de la radioterapia.

5. Lapatinib inhibe la angiogenesis tumoral y reduce el número de células progenitoras endoteliales circulantes (CEPs) in vivo.

6. Hemos validado la estrategia de inhibición de las vías de supervivencia celular receptores tirosina quinasa (EGFR/Her-2), Akt, Erk1/2, Hif-1 $\alpha$ , inducidas por la radioterapia, como modo de radiosensibilizar a las células tumorales de próstata y pulmón.

## Estudio del valor pronóstico clínico de nuevos mediadores del proceso metastásico en el cáncer de pulmón

K. Valencia<sup>1</sup>, C. Ormazábal<sup>1</sup>, C. Zanduetta<sup>1</sup>, D.L. Ravelo<sup>1</sup>, I. Antón<sup>1</sup>, M.J. Pajares<sup>2</sup>, J. Agorreta<sup>2</sup>, L.M. Montuenga<sup>2</sup>, S. Martínez-Canarias<sup>1</sup>, B. Leitinger<sup>3</sup>, F. Lecanda<sup>1</sup>

1. Adhesion and Metastasis Laboratory

2. Biomarkers Laboratory, Division of Oncology, Center for Applied Biomedical Research (CIMA). University of Navarra, Pamplona, Spain

3. National Heart and Lung Institute, Imperial College London, London, United Kingdom

### FUNDAMENTO

El cáncer de pulmón representa la causa principal de mortalidad en los países occidentales con más de 500.000 muertes anuales en EEUU y más de un millón en el mundo, con una tasa de supervivencia a los 5 años de entre 10-15%. El cáncer de pulmón engloba al carcinoma microcítico de pulmón (SCLC) 25 %, y al cáncer de pulmón no microcítico alrededor del 75%, que incluye el adenocarcinoma, el carcinoma escamoso, y el carcinoma de células grandes además de otros subtipos histológicos raros.

De forma similar a lo que ocurre en otros tumores, las células del cáncer de pulmón frecuentemente evaden los tumores primarios y tienden a diseminarse localmente a la cavidad torácica y al espacio pleural, así como a órganos distantes como el cerebro, el esqueleto, glándulas adrenales, pericardio e hígado. Alrededor del 30% de pacientes en estadio I mueren tras la resección completa del tumor, debido a la presencia de metástasis indetectables al diagnóstico. Esto ocurre como consecuencia de la escasez de marcadores con valor pronóstico o predictivo del desarrollo tumoral o de la respuesta a tratamiento. Recientemente se ha establecido el valor predictivo de la respuesta a tratamiento con cisplatino del ERCC1 en el cáncer de pulmón no microcítico. De manera similar se han detectado pacientes con mutaciones en el EGFR que predicen una buena respuesta a tratamiento. Sin embargo, hasta el momento no se han identificado muchos genes clave involucrados en el desarrollo de metástasis o que posean valor clínico.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Con objeto de identificar posibles marcadores asociados con mal pronóstico, se puso a punto una estrategia de selección de subpoblaciones metastásicas en un modelo murino en tres subtipos histológicos de cáncer de pulmón, el adenocarcinoma, el carcinoma de células grandes y el carcinoma escamoso. Estos modelos recapitulan el espectro de lesiones encontrado en humanos. Mediante un análisis transcriptómico global combinado con

un robusto filtrado bioinformático se seleccionaron genes con potencial actividad prometastásica para la posterior validación funcional. Aquellos que contribuyeron al fenotipo metastásico se analizaron en muestras clínicas de pacientes. Por otro lado, también se realizó una estrategia transcriptómica global utilizando biopsias de pacientes con cáncer de pulmón. Esta estrategia identificó otros genes con potencial capacidad metastásica.

### RESULTADOS

Uno de los genes identificados fue el receptor de colágeno DDR1, *Discoidin Domain Receptor 1*. Éste codifica a una proteína tirosín quinasa que se activa por interacción con diversos tipos de colágeno y participa en varios procesos celulares como la adhesión, migración y remodelado extracelular. DDR1 se expresa en todos los subtipos histológicos de cáncer de pulmón no microcítico y microcítico. La activación del receptor se observó en la mayoría de las líneas de no microcítico mientras que las de microcítico no se activaron. Con el fin de evaluar su valor clínico, se llevó a cabo un análisis inmunohistoquímico en una cohorte de la "Clínica Universidad de Navarra" de 83 pacientes. Aquellos pacientes de estadio I y elevados niveles de DDR1 mostraron una menor supervivencia. De igual modo aquellos pacientes que no habían sido tratados y presentaban niveles altos de DDR1 mostraron una menor supervivencia. El silenciamiento de DDR1 (shDDR1) mediante una estrategia lentiviral, resultó en una inhibición de los niveles de expresión del 78%, así como de la activación de la proteína. Las células shDDR1 no mostraron diferencias en su cinética tanto *in vitro* como *in vivo*, a pesar de que el silenciamiento se observó de manera efectiva en los tumores *in vivo*. El tratamiento con colágeno protegió de la apoptosis mediante un efecto mediado por DDR1 en condiciones basales. De igual modo, las células silenciadas para DDR1, mostraron una mayor apoptosis inducida con TRAIL y etopósido, y ese efecto no se vio modificado tras la adición de colágeno, en comparación con las células con DDR1. Las células silenciadas mostraron una menor capacidad invasiva y quimiotáctica que las

células control. Estos efectos que se asociaron con una menor actividad metaloproteolítica en ensayos fluorogénicos. No se observaron efectos sobre la adhesión a proteínas extracelulares.

En un modelo de metástasis, las células silenciadas mostraron una menor capacidad metastásica a hueso, asociada con una menor capacidad de "homing" y una menor colonización ósea. Estos datos se vieron sustanciados por el hecho de que la sobreexpresión de DDR1 en otra línea celular con niveles basales bajos de DDR1, mostró una marcada capacidad de "homing". Actualmente siguen en estudio otros genes identificados con potencial valor pronóstico y terapéutico.

### CONCLUSIONES

Este estudio mostró que la activación del receptor tirosín quinasa DDR1 constituye un

componente crucial en las metástasis óseas del cáncer de pulmón. DDR1 media señales de supervivencia tras la interacción célula-matriz *in vivo* que resultan críticas en la capacidad de "homing" y colonización a hueso. Nuestros datos también sugieren que existe una asociación fuerte entre los niveles de expresión de DDR1 y el tiempo de supervivencia en pacientes con cáncer de pulmón en estadio I y pacientes no tratados.

Estos datos también sustentan el posible efecto terapéutico beneficioso del bloqueo de DDR1. Incluso, muestran una "prueba de concepto" del posible efectos sinérgico con la quimioterapia y radioterapia convencional lo que llevaría a una mayor eficacia con menos efectos adversos que los tratamientos actuales. En conclusión, DDR1 representa una nueva diana para el tratamiento de las metástasis óseas del cáncer de pulmón.

---

## Actividad oscilatoria en el núcleo subtalámico en la enfermedad de Parkinson. Relación con los cambios en el estado motor y la realización de tareas motoras y no motoras

**M. Alegre**

Universidad de Navarra

### FUNDAMENTO

A lo largo de las dos últimas décadas, ha suscitado un gran interés el estudio de la actividad oscilatoria cortical como vehículo de integración ("binding") a nivel perceptivo, cognitivo o motor. La colocación de estimuladores profundos en diferentes núcleos de los ganglios de la base y el tálamo para tratar diversas enfermedades neurológicas proporciona una oportunidad única para estudiar la actividad oscilatoria a nivel de estas estructuras.

En pacientes con enfermedad de Parkinson en situación OFF (sin medicación), se observa en el núcleo subtalámico una intrusión de actividad oscilatoria anómala a frecuencias alrededor de 20 Hz (11-30 Hz) que disminuye o desaparece al administrar fármacos dopaminérgicos. En situación ON (tras la toma de medicación y mejoría de los síntomas motores) aparece actividad oscilatoria en la banda de frecuencia de 60-80 Hz, y en torno a 300 Hz.

La realización de tareas motoras simples modifica la actividad oscilatoria a nivel de los ganglios basales. Un segundo antes de la realización del movimiento se observa una desincronización de la actividad beta (11-30 Hz) que es seguida por un incremento al finalizar el movimiento. En situación ON se observa además un incremento durante la ejecución del movi-

miento en la actividad de 60-80 Hz y en la de 300 Hz.

Sin embargo, el papel fisiológico de los ganglios basales no se limita únicamente a tareas motoras simples. El estudio de la participación de los ganglios basales en tareas no motoras (circuitos fronto-basales relacionados con función ejecutiva, sistema límbico, etc.) puede abrir nuevas posibilidades terapéuticas para el tratamiento de los síntomas no motores de la enfermedad de Parkinson, uno de los campos que presenta un mayor deasafío terapéutico.

Desde un punto de vista fisiopatológico, se ha propuesto que la presencia o ausencia de estas oscilaciones puede tener un papel en la bradicinesia presente en la enfermedad de Parkinson, aunque también hay autores que consideran que son simplemente un marcador del estado de depleción dopaminérgica.

### PACIENTES Y MÉTODOS

El proyecto ha constado de dos estudios realizados en pacientes sometidos a estimulación cerebral profunda de núcleo subtalámico (NST) como tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP).

En un primer estudio de 14 pacientes, se ha registrado empleando una frecuencia de mues-

treo muy alta la actividad en reposo durante las transiciones del estado motor, así como durante la realización de movimientos balísticos simples, con el objetivo de estudiar los cambios en las distintas frecuencias durante la transición, y las interacciones entre las mismas.

En el segundo estudio, se han incluido tres subgrupos de pacientes con enfermedad de Parkinson, en función de la presencia de disquinesias (9 pacientes), trastorno de control de impulsos (9 pacientes), o la ausencia de ambos (8 pacientes). Se han seleccionado en cada uno de los pacientes fragmentos de 5 minutos en reposo en estado motor ON y OFF, para comparar la actividad oscilatoria entre los tres grupos en ambos estados.

Ambos estudios han sido realizados durante el período comprendido entre la colocación del estimulador (día 0) y la internalización del sistema y conexión a las baterías (día 5 o día 6), siguiendo el protocolo establecido en nuestro centro y tras haber obtenido el consentimiento informado de los pacientes.

La actividad de potenciales de campo en el núcleo subtalámico se ha registrado por medio de canales bipolares entre electrodos contiguos del estimulador, conectados a amplificadores diferenciales Digitimer. La señal fue adquirida mediante un convertidor analógico-digital CED y software Spike2 o Signal.

El estudio de las transiciones OFF-ON y los períodos de reposo se ha realizado mediante transformadas de Fourier enventanadas de la señal de potenciales de campo del NST, empleando una visualización 3D (frecuencia, potencia, tiempo) en color, y representaciones lineales de la evolución temporal en rangos determinados. El análisis de los cambios de la actividad oscilatoria en relación con movimiento se ha realizado mediante transformadas tiempo-frecuencia (transformadas Gabor o Stockwell), con el mismo tipo de representaciones 3D en color. Las interacciones entre frecuencias han sido estudiadas mediante el cálculo del índice de modulación, que permite cuantificar el acoplamiento fase-amplitud entre una frecuencia lenta y otra más rápida. Todos los análisis de Fourier, tiempo-frecuencia e interacciones entre frecuencias han sido realizados mediante software específico desarrollado en entorno Matlab.

Los cambios más destacados en las regiones de interés han sido comprados entre condiciones por medio de estadística no paramétrica pareada (test de Wilcoxon) o ANOVAs (programa SPSS).

## RESULTADOS

El estudio de los cambios de actividad oscilatoria durante la transición del estado motor,

ha mostrado que los incrementos en la actividad de alta frecuencia con el movimiento (250-350 Hz) son el mejor marcador del estado motor del paciente, con una correlación significativa con la puntuación en rigidez y bradicinesia. En el estado motor "off" (sin medicación), estas oscilaciones de alta frecuencia se encuentran "secuestradas" (índice de modulación muy alto, significativamente acopladas) por la actividad beta anormal, lo que impide su incremento. En el estado motor "on", la actividad beta anormal desaparece, al igual que el acoplamiento fase-amplitud, lo que permite que las oscilaciones de alta frecuencia aumenten libremente con el movimiento (López Azcárate y cols., 2010).

En el segundo trabajo, se ha logrado establecer la relación entre un trastorno no motor de la enfermedad (trastorno de control de impulsos) y la aparición de un pico de actividad theta en la región ventral del núcleo subtalámico, incluyendo un estudio topográfico de la localización de actividad oscilatoria en relación a fenómenos motores y no motores. De hecho, la actividad theta observada en el mismo estado motor en las regiones dorsales del núcleo se asocia a la presencia de disquinesias, no a impulsividad (Rodríguez-Oroz y cols., 2011).

## CONCLUSIÓN

La actividad oscilatoria en el núcleo subtalámico en la enfermedad de Parkinson presenta unos patrones de interacción complejos que pueden ser fundamentales en la fisiopatología de la enfermedad.

La topografía de la actividad anormal en el núcleo subtalámico en la enfermedad de Parkinson condiciona el tipo de manifestaciones clínicas observadas: los cambios en las regiones ventrales se asocian a fenómenos no motores, mientras que los cambios más dorsales se asocian a trastornos motores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. J. LÓPEZ-AZCÁRATE, M. TAINTA, M.C. RODRÍGUEZ-OROZ, M. VALENCIA, R. GONZÁLEZ, J. GURIDI, J. IRIARTE, J.A. OBESO, J. ARTIEDA, M. ALEGRE. Coupling between beta and high-frequency activity in the human subthalamic nucleus may be a pathophysiological mechanism in Parkinson's disease. *J Neurosci* 2010; 30(19): 6667-6677.
2. M.C. RODRÍGUEZ-OROZ, J. LÓPEZ-AZCÁRATE, D. GARCÍA-GARCÍA, M. ALEGRE, J. TOLEDO, M. VALENCIA, J. GURIDI, J. ARTIEDA, J. A. OBESO. Involvement of the subthalamic nucleus in impulse control disorders associated with Parkinson's disease. *Brain* 2011; 134(1): 36-49.



## Estilos de vida saludables, obesidad y diabetes *mellitus* tipo 2: análisis longitudinal de una cohorte prospectiva con base en Navarra

Maira Bes-Rastrollo

Universidad de Navarra

### FUNDAMENTO

En el siglo XXI, la obesidad representa una gran prioridad para la Salud Pública. Su elevada y rampante prevalencia afecta no solo a países desarrollados, sino también a países en desarrollo. La OMS la reconoce como una importante pandemia. Según datos de la OMS en 2008 la prevalencia global de sobrepeso afectaba a unos 1.500 millones de adultos, y al menos 500 millones de ellos eran obesos. Además, 43 millones de niños menores de 5 años presentaban sobrepeso en 2010. Las proyecciones para 2015 de la OMS son 2.300 millones de adultos con sobrepeso y más de 700 millones con obesidad. En Europa la prevalencia de obesidad se ha multiplicado por 3 en los últimos 20 años. En España según datos recientes del estudio ENRICA formado por una muestra representativa de la población adulta española de 11.991 participantes encontró una prevalencia de obesidad del 22,9%. La obesidad es un factor de riesgo causal para enfermedad cardiovascular, hipertensión, diabetes tipo 2, enfermedades musculoesqueléticas y algunos tipos de cáncer. Las causas de la obesidad son múltiples y complejas. No obstante, la causa última es la existencia de un desequilibrio energético donde la energía ingerida excede la energía gastada. El rápido crecimiento en la prevalencia de la obesidad hace descartar causas genéticas como causa principal de este problema. En cambio, todo parece indicar que el gran reto para la salud pública está en cambiar la cultura actual, la conducta y los estilos de vida que son los causantes de ese desequilibrio energético. La obesidad es resistente a intervenciones terapéuticas, por eso la aproximación preventiva y por ello conocer qué estilos de vida están relacionados con la obesidad es prioritario. La prevalencia mundial de diabetes según la International Diabetes Federation es del 6,6% en la población adulta. En España el estudio ENRICA recientemente ha encontrado una prevalencia del 7%. La trascendencia de la diabetes se debe a sus complicaciones: macrovasculares, la nefropatía diabética siendo la causa más frecuente de nuevos pacientes en diálisis y de candidatos a trasplante renal y las retinopatías. Varios estudios recientes han demostrado un gran potencial preventivo a través de cambios en los estilos de vida debido a la fuerte asociación de la diabetes tipo 2 con la obesidad y con la falta de ejercicio físico. Por

ello, conocer que estilos de vida están asociados a la diabetes y la prevención mediante cambios en el comportamiento debe ser el objetivo principal. Existen diferentes estudios aleatorizados de prevención primaria que demuestran la capacidad preventiva de un estilo de vida saludable. No obstante, ninguno de ellos ha evaluado la prevención de los estilos de vida saludables en una población mediterránea.

### MATERIAL Y METODOS

Método: Estudio de cohortes prospectivo multipropósito seguido mediante cuestionarios por correo o por Internet cada dos años con reclutamiento permanentemente abierto. La cohorte SUN consta actualmente de 21.435 participantes graduados universitarios procedentes de la Universidad de Navarra, y de otros colectivos profesionales de Navarra y del resto de España. El cuestionario basal recoge información sobre factores sociodemográficos, estilos de vida y hábitos alimentarios. La información sobre la dieta se recoge mediante un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos previamente validado en España. La actividad física se recoge mediante un cuestionario previamente validado con el que se obtiene los equivalentes metabólicos para cada participante. La fiabilidad y validez del peso y el IMC autodeclarados han sido previamente evaluados en una submuestra de la cohorte encontrando suficiente validez para ser utilizados en los estudios epidemiológicos. Los casos incidentes de diabetes fueron confirmados mediante un cuestionario adicional enviado a los participantes y la revisión de las historias clínicas por un endocrinólogo. Se estimaron densidades de incidencia para los efectos de interés mediante modelos de regresión logística no condicional o de Cox multivariantes para poder ajustar por posibles factores de confusión o mediante regresión lineal múltiple cuando se evaluó el cambio de peso durante el seguimiento como variable cuantitativa continua.

### RESULTADOS

Gracias a la concesión de este proyecto de investigación se ha conseguido la publicación de 21 artículos científicos en revistas indexadas y de revisión por pares, así como 3 comunica-

ciones orales en las que el Gobierno de Navarra figura explícitamente en los agradecimientos o fuentes de financiación de todas ellas. Sería muy largo presentar aquí los resultados de todas estas publicaciones. En resumen, se ha observado una asociación entre diferentes estilos de vida con la obesidad y la ganancia de peso: un aumento en la realización de actividad física se asoció con una disminución del peso corporal. Asimismo, se vio por primera vez en una población mediterránea usando un análisis prospectivo longitudinal que el hábito de picotear entre comidas, el comer fuera de casa, las altas cantidades de alcohol en especial procedente de licores y cervezas y el consumo habitual de fritos eran factores de riesgo para la ganancia de peso y la incidencia de obesidad. De forma similar, los participantes que dejaron de fumar durante el seguimiento y los fumadores activos experimentaron mayores ganancias de peso que los nunca fumadores. Cuando se evaluó de forma conjunta el comportamiento dietético mediante preguntas sencillas, se comprobó que aquellos participantes que tenían unos hábitos dietéticos más saludables presentaban menor riesgo de desarrollar sobrepeso/obesidad durante el seguimiento (Odds Ratio ajustada: 0,62; IC 95%: 0,48-0,81). Se ha presentado una comunicación oral en la que se evalúa el efecto del dormir la siesta sobre el riesgo de obesidad, encontrando que aquellos participantes que realizaban una siesta de 30 minutos al día reducían su riesgo de desarrollar obesidad en un 32% (Hazard Ratio ajustada: 0,68; IC 95%: 0,48-0,96). Sin embargo no se encontró ninguna asociación entre quienes realizaban una siesta de entre 30 minutos y 1 hora, ni tampoco cuando se analizaron las horas de sueño en total. A lo largo del proyecto se evaluaron las diferentes hipótesis tomando como variable de desenlace de interés la incidencia de diabetes tipo 2. No obstante, dado el bajo número de casos de diabetes incidentes durante el proyecto, hicieron que en ninguno de los análisis se pudiera obtener suficiente potencia estadística. En la

actualidad se disponen de 99 casos de diabetes confirmados, por lo que, si la financiación lo permite, en un futuro se estudiarán los diferentes estilos de vida que puedan proteger o ser un factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad. En la actualidad se está trabajando en una comunicación oral presentada en el último congreso de epidemiología para que pueda ser publicada como artículo original; en ella se observó que una mayor actividad física en el tiempo libre se asocia con un menor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 en una cohorte de graduados universitarios, incluso después de ajustar por posibles factores de confusión incluyendo los cambios en el peso corporal.

## DISCUSIÓN

Pensamos que el rendimiento científico de este proyecto sigue siendo extraordinario. Nos parece excepcional que de un proyecto se deriven en tan poco tiempo 21 publicaciones todas ellas en revistas indexadas con buen índice de impacto, salvo una, y 3 comunicaciones orales presentadas en el último congreso de epidemiología que están siendo preparadas para ser publicadas. A lo largo de la realización del proyecto, hemos podido identificar diferentes estilos de vida saludables asociados con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 con una gran aplicación en el campo de la Salud Pública a través de un enorme potencial preventivo en la Comunidad Foral de Navarra. El proyecto SUN va adquiriendo con el paso del tiempo gran prestigio entre la comunidad científica nacional e internacional por lo que proyecta a un alto nivel científico la imagen de Navarra. Por sus características metodológicas cuantos más participantes y tiempo de seguimiento abarque mejor será su rendimiento. Por ello, somos conscientes que los buenos resultados científicos se mantendrán e incluso mejorarán en un futuro si dicho proyecto tiene el honor de seguir recibiendo financiación por parte del Dpto. de Salud del Gobierno de Navarra, al que le estamos muy agradecidos por la ayuda prestada.

## Estudio de la utilidad de la bioimpedancia en la determinación de la grasa visceral y su aplicación en el diagnóstico y tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades

J. Gómez-Ambrosi<sup>1,2</sup>, I. González-Crespo<sup>3</sup>, V. Catalán<sup>1,2</sup>, A. Rodríguez<sup>1,2</sup>, P. Ibáñez<sup>2,4</sup>, B. Ramírez<sup>1,2</sup>, S. Becerril<sup>1,2</sup>, C. Silva<sup>2,4</sup>, J.J. Noguera<sup>3</sup>, M.J. Gil<sup>2,5</sup>, J. Salvador<sup>2,4</sup>, A. Benito<sup>3</sup>, I. Colina<sup>6</sup>, G. Frühbeck<sup>1,2,4</sup>

1. Laboratorio de Investigación Metabólica. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona
2. CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERObn), Instituto de Salud Carlos III
3. Servicio de Radiología, Clínica Universidad de Navarra. Pamplona
4. Departamento de Endocrinología y Nutrición. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona
5. Departamento de Bioquímica. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona
6. Departamento de Medicina Interna. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

### FUNDAMENTO

La obesidad se ha convertido en este siglo en una de las principales causas de muerte y discapacidad, amenazando, por tanto, muchos de los logros sanitarios alcanzados durante las últimas décadas. Tanto el sobrepeso como la obesidad se asocian a un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (ECV), hipertensión, diabetes mellitus, dislipemias, accidentes cerebrovasculares, alteraciones osteoarticulares, síndrome de apneas obstructivas del sueño, desarrollo de determinados tipos de cáncer, al margen de alteraciones psicológicas y marginación social. Esto se traduce en una disminución de la expectativa de vida asociada al exceso de peso, así como en una elevada mortalidad.

En la actualidad, se considera al tejido adiposo como un órgano endocrino extraordinariamente activo. Tradicionalmente considerado como un mero almacén de energía en forma de triglicéridos, en los últimos años se ha puesto de manifiesto que el tejido adiposo produce una gran variedad de moléculas con funciones pleiotrópicas, denominadas colectivamente adipokinas. Por definición el sobrepeso y la obesidad corresponden a un exceso de grasa corporal. Sin embargo, la medida habitualmente empleada para el estudio y clasificación de estas enfermedades crónicas, el índice de masa corporal [IMC = peso (kg)/altura (m)<sup>2</sup>], se basa en la existencia de un exceso de peso con respecto a la talla. Aunque existe una buena correlación entre aumento de peso e incremento de la masa grasa, lo idóneo consistiría en medir directamente el porcentaje de grasa corporal y emplear este valor como elemento de clasificación. Por otra parte, no sólo el porcentaje de grasa corporal sino su distribución anatómica, va a determinar de manera muy significativa la incidencia del sobrepeso y la obesidad sobre las comorbilidades asociadas. El tejido adiposo subcutáneo en un

humano adulto representa aproximadamente el 80-90% de la masa grasa total, mientras que el tejido adiposo visceral, compuesto por el intra-peritoneal (omental y mesentérico) y el retroperitoneal, representa el 20% en varones y el 5-8% en mujeres. En este sentido, la obesidad visceral, central o "androide", se asocia con una incidencia superior de alteraciones metabólicas, riesgo elevado de ECV y mayores tasas de mortalidad. Por el contrario, la acumulación de tejido adiposo en la región subcutánea gluteofemoral, lo que se denomina obesidad periférica o "ginoide", muestra una menor morbi-mortalidad.

La determinación de la composición corporal y distribución de los depósitos grasos requiere de técnicas y cálculos sofisticados. Los métodos más frecuentemente utilizados son la densitometría, la absorciometría de rayos X de energía dual (*Dual Energy X-Ray Absorptiometry*, DEXA), la tomografía computarizada (TAC), la resonancia magnética (RM) y la impedancia bioeléctrica (bioimpedancia, BIA). La BIA se fundamenta en que la resistencia que el cuerpo opone al paso de una corriente eléctrica permite determinar el porcentaje de grasa corporal atendiendo a que el tejido no graso es mejor conductor que el tejido adiposo. Uno de los inconvenientes que presenta es que asume una hidratación constante del tejido magro. No obstante, su uso está cada vez más extendido dado su reducido coste económico y su fácil manejo. En grupos de sujetos muestra una buena concordancia con la información obtenida de la densitometría y el DEXA. Además, permite una buena estimación de los cambios corporales que tienen lugar con la pérdida ponderal. Actualmente, existe en el mercado un novedoso equipo de BIA que permite la determinación de manera sencilla y económica de la grasa abdominal de un individuo (ViScan, Tanita Corp., Tokio, Japón). Con el individuo tumbado en posición supina, se dispone

la unidad base sobre el abdomen y el cinturón de BIA sobre el vientre. El dispositivo recoge información mediante la utilización de BIA de frecuencia dual y la transmite por infrarrojos a la unidad receptora en un periodo de 30 segundos. El equipo cuantifica el porcentaje de grasa troncal, la circunferencia de la cintura y el nivel de grasa visceral abarcando un rango muy amplio en todas las variables estudiadas que comprenden desde valores muy bajos hasta muy elevados. No obstante, la información que se obtiene con este equipo, dada su reciente aparición, no ha sido validada en comparación con otros métodos de referencia como TAC o RM.

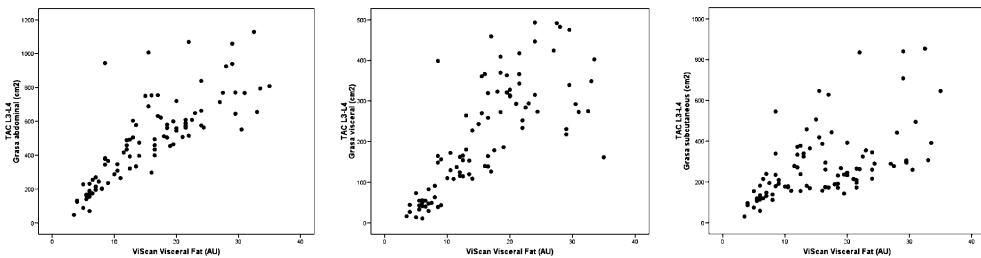
## MATERIAL Y MÉTODOS

Para determinar la precisión y reproducibilidad del ViScan se incluyeron 92 sujetos, de ambos sexos, que acudieron al Departamento de Endocrinología y Nutrición de la Clínica Universidad de Navarra. La determinación de la grasa troncal y visceral obtenida con el ViScan se

comparó con la información obtenida mediante TAC en L3-L4. Además, se analizó el porcentaje de grasa troncal y visceral con el ViScan en 1.693 individuos.

## RESULTADOS

Se determinó la cantidad de tejido adiposo abdominal mediante el VISCAN y mediante TAC en 92 sujetos. El grado de correlación del porcentaje de grasa troncal determinado mediante el VISCAN con la grasa abdominal medida mediante TAC fue  $r=0,74$ ,  $P<0,001$ , siendo con la grasa visceral  $r=0,40$ ,  $P<0,001$  y con la subcutánea  $r=0,75$ ,  $P<0,001$ . La correlación del valor de grasa visceral con la grasa abdominal medida mediante TAC fue  $r=0,80$ ,  $P<0,001$ , siendo con la grasa visceral  $r=0,76$ ,  $P<0,001$  y con la subcutánea  $r=0,56$ ,  $P<0,001$  (Fig. 1). Por último, la correlación del "grado" de grasa troncal con la grasa abdominal medida mediante TAC fue  $r=0,78$ ,  $P<0,001$ , siendo con la grasa visceral  $r=0,82$ ,  $P<0,001$  y con la subcutánea  $r=0,47$ ,  $P<0,001$ .



**Figura 1.** Correlaciones del valor de grasa visceral determinado mediante el ViScan con la grasa abdominal total, visceral y subcutánea medida mediante TAC. AU: unidades arbitrarias.

Además se analizó el porcentaje de grasa troncal en 1.693 individuos (675 varones y 1.018 mujeres) mediante el analizador VISCAN. El grado de grasa troncal fue  $27,4 \pm 0,5\%$  en los voluntarios con normopeso,  $38,2 \pm 0,3\%$  en los individuos con sobrepeso y  $47,7 \pm 0,2\%$  en los sujetos obesos. El porcentaje de grasa corporal fue de  $28,5 \pm 0,5\%$  en los voluntarios con normopeso,  $36,6 \pm 0,3\%$  en los individuos con sobrepeso y  $45,3 \pm 0,3\%$  en los sujetos obesos. Se encontró una correlación muy significativa entre el porcentaje de grasa troncal y el porcentaje de grasa corporal total determinado

mediante pletismografía de desplazamiento de aire BodPod ( $r=0,85$  y  $r=0,86$ , varones/mujeres,  $P<0,000001$  para ambos), el IMC ( $r=0,83$  y  $r=0,78$ ,  $P<0,000001$ ) y el perímetro de la cintura ( $r=0,86$  y  $r=0,83$ ,  $P<0,000001$ ).

## CONCLUSIÓN

La determinación de la grasa troncal y la grasa visceral abdominal mediante el ViScan ofrece una precisión aceptable para poder utilizarse de manera rutinaria en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con sobrepeso y obesidad.

## Reducción de síndrome metabólico en Navarra-Spain (RESMENA-S) mediante una estrategia multidisciplinar e innovadora, basada en la crononutrición y la educación nutricional, junto con control dietético y psicológico

P. López-Legarrea<sup>1</sup>, R. de la Iglesia<sup>1</sup>, I. Abete<sup>1</sup>, A. Ibáñez-Melo<sup>1</sup>, S. Navas-Carretero<sup>1</sup>, I. Bondía-Pons<sup>1</sup>, B.E. Martínez de Morentin<sup>1</sup>, S. Pérez<sup>1</sup>, F. Lahortiga<sup>2</sup>, C.I. Lacunza<sup>2</sup>, L. Forga<sup>3</sup>, M.A. Zulet<sup>1</sup>, J.A. Martínez<sup>1</sup>

1. Dpto. de Ciencias de la Alimentación, Fisiología y Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra.
2. Departamento de Psiquiatría. Clínica Universidad de Navarra.
3. Servicio de Endocrinología. Complejo Hospitalario de Navarra.

### FUNDAMENTO

El presente trabajo plantea la hipótesis de que la ingesta de un patrón dietético basado en la crononutrición y el aprendizaje, junto con sesiones de apoyo dietético y control psicológico, puede reducir el peso corporal y mejorar el estado oxidativo e inflamatorio en población con criterios clínicos de síndrome metabólico (SM).

El objetivo principal del tema propuesto es educar para la salud mediante un patrón dietético basado en la alimentación tradicional, junto con la elección y distribución de alimentos a lo largo del día, con énfasis en hábitos de vida saludables que favorezcan la adherencia a la dieta durante y tras la finalización de la intervención, con el fin de reducir criterios clínicos de SM en la población estudiada.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio de intervención nutricional llevado a cabo en pacientes con SM, longitudinal y aleatorizado, con dos grupos paralelos, dieta control (basada en la Asociación Americana del Corazón-AHA) y dieta en estudio (RESMENA: Reducción de síndrome metabólico en Navarra), cuya duración total ha sido de 6 meses divididos en dos periodos, intervención (2 meses con seguimiento quincenal) y autonomía (aplicación de lo aprendido, 4 meses). El patrón dietético de la dieta Resmena se basa en la pérdida de peso (restricción energética 30%), con una distribución en macronutrientes (hidratos de carbono/grasa/proteínas) de 40/30/30, elevada frecuencia de ingesta (7/día), bajo índice/carga glucémica y elevada adherencia a la dieta Mediterránea.

Las actividades que se propusieron se desarrollaron según los procedimientos aprobados por el Comité de Ética de la Investigación de la

Universidad de Navarra. Los criterios de inclusión se concretaron de acuerdo con los establecidos por la International Diabetes Federation (2005). Las variables e instrumentos de medida estuvieron relacionados con medidas corporales y con determinaciones bioquímicas asociadas a riesgo de obesidad y complicaciones asociadas. Este estudio está registrado en [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) con el número NCT01087086.

### RESULTADOS

Los sujetos incluidos inicialmente en el estudio fueron 109, divididos en dos grupos Control (52) y grupo Resmena (57). Todos ellos cumplieron los criterios de inclusión. Tras 2 meses de intervención nutricional (periodo de aprendizaje), 48 individuos del grupo Control y 48 del grupo Resmena completaron el estudio, comenzando el periodo de autonomía (4 meses más aplicando lo aprendido pero sin seguimiento por parte de una dietista-nutricionista). Finalmente, el número de sujetos que completaron los 6 meses de intervención fueron 40 individuos del grupo Control y 38 del grupo Resmena.

Los resultados obtenidos en este estudio parecen indicar que el patrón dietético que caracteriza a la dieta Resmena, además del patrón de la dieta AHA, podría recomendarse a pacientes con SM para mejorar criterios clínicos tales como perímetro de la cintura, índice de masa corporal, presión arterial, glucemia, trigliceridemia, colesterolemia, trasaminasas y obtener una mejora en el estado oxidativo e inflamatorio, mecanismos vinculados a obesidad y otras complicaciones asociadas. Igualmente, ambos tratamientos dietéticos se podrían recomendar a pacientes con sobrepeso-obesidad por la reducción obtenida en el peso corporal y en la adiposidad.

## DISCUSIÓN

A pesar de la mejora obtenida con los dos tratamientos, es preciso indicar que en ambos casos, AHA y Resmena, el seguimiento dietético con control quincenal llevado a cabo durante dos meses por una dietista-nutricionista resultó más efectivo que el periodo de autonomía.

Por otra parte, los resultados muestran que la dieta Resmena en el periodo de autonomía consiguió controlar mejor las variables relacionadas con criterios clínicos de SM, al igual que tras 6 meses. Dichos resultados, podrían indicar que a largo plazo la dieta Resmena podría ser más beneficiosa que la dieta AHA, quizá debido

a la mayor adherencia o facilidad para su seguimiento.

La posibilidad de contar con otro patrón dietético efectivo en el SM, además del propuesto por la AHA, podría ser de utilidad para obtener una reducción importante en el número de pacientes con SM a largo plazo. En este sentido, uno de los principales problemas de los programas nutricionales destinados a estos pacientes es el abandono de la dieta, por causa de la monotonía y repetibilidad en las pautas dietéticas establecidas. La combinación de ambos tratamientos, podría contribuir a la reducción del SM.