

## Caracterización de la pérdida auditiva en la enfermedad de Alzheimer

F.J. Cervera-Paz<sup>1</sup>, C. Gimeno<sup>1</sup>, S. San Bruno<sup>1</sup>, P. Martínez Barbarín<sup>1</sup>, A. Rodríguez Areta<sup>1</sup>, B. Andueza<sup>1</sup>, J. Lucas<sup>1</sup>, P. Martínez Lage<sup>2</sup>, I. Lamet<sup>2</sup>, E.E. Bescós<sup>2</sup>

1. Departamento de Otorrinolaringología. Clínica de la Universidad de Navarra. Pamplona.

2. Unidad de Trastornos de la Memoria. Clínica de la Universidad de Navarra. Pamplona.

### FUNDAMENTO

La sordera es una dolencia común en la ancianidad; su causa más frecuente es la presbiacusia, que afecta al 25% de los ancianos entre 65 y 74 años, y al 50% de los mayores de 75 años. En España, con unas tasas cercanas al 84 por mil entre las personas de más de 65 años, las deficiencias auditivas suponen la primera causa de discapacidad en los ancianos varones y la cuarta entre las mujeres. La pérdida auditiva contribuye al aislamiento de los ancianos, ya que sólo una minoría tiene un tratamiento protésico adecuado. Así, los ancianos sordos tienen más síntomas de depresión, menor capacidad funcional, menor calidad de vida, y mayores probabilidades de institucionalización. De los ancianos con pérdida auditiva son especialmente vulnerables los que además padecen un trastorno cognitivo.

Sólidos estudios epidemiológicos confirman que existe una asociación –no meramente estadística– entre la pérdida auditiva y la demencia por enfermedad de Alzheimer (EA), ya que estos pacientes presentan mayor pérdida auditiva que los ancianos sin declive cognitivo y un mayor grado de deterioro cognitivo cuanto mayor es su sordera. Los estudios morfológicos realizados en las cócleas de pacientes con EA muestran una disminución de los elementos neurales de las regiones basales, lo que se contrapone con la mayor sordera de estos pacientes para las frecuencias graves mostrada en algunos estudios clínicos, puesto que son codificadas en las regiones opuestas (apicales) de la cóclea. Tampoco los estudios morfológicos de la vía auditiva central ni los neurofisiológicos han logrado clarificar si la disfunción auditiva de la EA obedece a un deterioro de la vía auditiva central o al trastorno de las vías de asociación del lenguaje. Por tanto, en la literatura se contradicen datos epidemiológicos, neurofisiológicos y morfológicos, lo que no permite conocer si existe una relación entre la EA y una disfunción auditiva periférica. En nuestro trabajo realizamos un estudio auditivo exhaustivo en pacientes con EA y voluntarios de control a fin de investigar esta posible relación.

### MATERIAL Y MÉTODO

**Aspectos éticos.** El protocolo del estudio fue revisado y aprobado por la Comisión de Ética de Investigación de la Clínica de la Universidad de Navarra. A instancias de dicha comisión, se elaboró un

consentimiento informado que facilitara la comprensión del fin del estudio y de las pruebas a las que se sometería a los sujetos. Este documento estaba redactado de forma particularmente simple pensando en los participantes afectados de EA.

**Criterios de selección.** Se seleccionaron sujetos mayores de 65 años, con otoscopia normal. Se excluyeron del estudio las personas con diagnóstico previo de hipoacusia conductiva congénita o adquirida, uni o bilateral; hipoacusia neurosensorial congénita o adquirida de etiología conocida, uni o bilateral; patología del ángulo ponto-cerebeloso evidenciada en el estudio de RNM; o con antecedentes de cirugía ótica. Además se consideró causa de exclusión cualquier afección neurodegenerativa causante de demencia.

**Pacientes.** Se estudiaron 14 pacientes, con edad media de 79 años  $\pm 6$  años, con diagnóstico clínico de probable EA según los criterios NINCDS-ADRDA, seleccionados de forma consecutiva en la Unidad de Trastornos de la Memoria de la Clínica de la Universidad de Navarra. Se disponía de la exploración neurológica, evaluación neuropsicológica y RNM de todos.

**Controles.** Se estudiaron 14 voluntarios consecutivos, con edad media de 78  $\pm 6$  años que consultaron en el Departamento de Otorrinolaringología de la Clínica de la Universidad de Navarra, por pérdida auditiva u otros síntomas. Todos tenían normalidad cognitiva según el examen Mini-Mental y un test de memoria (aprendizaje de la lista de palabras de CERAD).

**Estudios auditivos.** A todos los participantes se les realizó una valoración auditiva subjetiva, en cabinas insonorizadas y con aparatos calibrados, mediante una audiometría tonal liminar, y una logaudiometría, empleando listas de vocablos fonéticamente equilibrados. Para el cálculo del umbral tonal medio (UTM) por la vía ósea y la aérea, según el estándar de la ANSI, se promediaron los valores en dB HL de las frecuencias 0,5, 1, 2 y 4 kHz. Siguiendo la metodología de Strouse y col, para el cálculo del UMT de graves, se promediaron los valores en dB HL de las frecuencias 0,25, 0,5 y 1 kHz, y para el UTM de agudos los valores en dB HL de las frecuencias 2, 4 y 6 kHz. También a todos se les realizó una valoración auditiva objetiva mediante estudio timpanométrico, estudio del reflejo estapedial, estudio de las otoemisiones acústicas (OEA), y estudio electrofi-

siológico de los potenciales auditivos troncoencefálicos (PEATC). El conjunto de pruebas duraba entre 3 y 4 horas, y se realizó en 1 ó 2 sesiones.

**Estudio estadístico.** Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS 15.0. Para conseguir la mayor potencia estadística se realizó un emparejamiento de 14 casos con EA y 14 controles, por sexo, edad, excluyéndose el resto para el análisis estadístico. En las variables con distribución normal se usó el test de la t de Student para muestras pareadas; en las que no seguían una distribución normal se realizó la prueba de Wilcoxon; en las variables cualitativas dicotómicas (como las OEA) se realizó el test de McNemar para muestras pareadas.

## RESULTADOS

El reclutamiento de participantes ha sido difícil, esencialmente debido al tiempo que se requería para la realización de todas las pruebas. Esto ha sido más manifiesto con los pacientes con EA, quienes dependen de familiares o cuidadores. Esta problemática hizo que la mayor parte de los participantes que seleccionamos fueran residentes en Navarra, dada su mayor disponibilidad para acudir a las pruebas.

Los datos del estudio se muestran resumidos en la tabla 1, con un análisis por separado de cada uno de los oídos. Todos los participantes mostraban unas curvas audiométricas tonales descendentes, propias de la

edad avanzada. Sin embargo, el análisis de los UTM demostró que los pacientes con EA tenían un patrón de mayor pérdida auditiva para las frecuencias agudas, con diferencias estadísticamente significativas. Los resultados de la logaudiometría no mostraron diferencias significativas.

En cuanto a la valoración auditiva objetiva, todos los participantes tenían timpanogramas de tipo A según la clasificación de Jerger, y presencia de reflejo estapedial para la estimulación auditiva ipsi y contralateral, lo que implica una normalidad del funcionamiento de los mecanismos tímpano-osciculares. El análisis de las OEA y de los PEATC transitorias no mostró diferencias significativas en los pacientes con EA frente a los controles pareados.

## CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos concuerdan y a la vez contradicen algunos estudios clínicos previos similares de la literatura, ya que existe una mayor pérdida auditiva en las frecuencias agudas en los pacientes con EA, poniendo así de manifiesto que parece existir un patrón auditivo propio de los pacientes con EA. Debido al envejecimiento que sufre nuestra población, al incremento de las tasas de pacientes con discapacidad auditiva y de pacientes con EA, estimamos necesario hacer un esfuerzo de sensibilización socio-sanitaria y ulteriores investigaciones para avanzar en el conocimiento de los efectos de la hipoacusia en la etapa final de la vida.

**Tabla 1.** Resultados de la valoración auditiva. Se presenta por separado el análisis del oído derecho (OD) y del oído izquierdo (OI).

Valor ± DE	EA OD	CT OD	p OD	EA OI	CT OI	p OI
UTM VA	40,9±17,6	38,6±18,4	0,616	40,2±16,3	38,6±14,5	0,678
UTM VO	32,2±15,5	29,5±14,5	0,517	33,±18,5	31,5±13,5	0,746
UTM VA graves	33,2±16,6	33,3±16,7	0,981	31,1±18,2	32,3±15,5	0,815
UTM VO graves	13,5±12,8	15,8±14,5	0,599	12±13	17±14	0,228
UTM VA agudos	55,3±20,3	49,5±22,7	0,322	57,3±18	51,2±19,3	0,236
UTM VO agudos	50,7±19,7	39,7±16,7	0,048	43,2±17	43,2±17,3	0,979
VA 3 kHz	50,7±19,2	43,9±24,5	0,230	49±17	44,3±17,5	0,271
VO 3 kHz	54,3±24,8	40,4±20,8	0,061	53,6±23,8	45,3±17,4	0,197
VA 4 kHz	58,6±23,9	47,85±24,6	0,165	58,6±17	47,8±22	0,129
VO 4 kHz	53,6±25,2	39,6±17,4	0,068	55,35±23,4	40±20	0,036
Umbral percepción (dB)	24,3±19,3	25,7±24,4	0,83	26,4±19,4	27,5±24	0,87
Umbral inteligibilidad (dB)	30±20,6	32,8±23,7	0,7	35,7±20	32,2±24	0,6
Discriminación máxima (%)	88,2±9,7	90±9,4	0,5	87,2±9	92,5±6,7	0,073
OEA 1 kHz	Au 9 / Pr 5	Au 10 / Pr 4	1	Au 7 / Pr 7	Au 11 / Pr 3	0,2
OEA 1,4 kHz	Au 8 / Pr 6	Au 9 / Pr 5	1	Au 8 / Pr 6	Au 11 / Pr 3	0,4
OEA 2 kHz	Au 6 / Pr 8	Au 9 / Pr 5	0,4	Au 9 / Pr 5	Au 11 / Pr 3	0,7
OEA 2,8 kHz	Au 10 / Pr 4	Au 8 / Pr 6	0,7	Au 12 / Pr 2	Au 8 / Pr 4	0,6
OEA 4 kHz	Au 11 / Pr 3	Au 10 / Pr 4	1	Au 13 / Pr 1	Au 11 / Pr 3	0,6
Latencia onda I	1,68±1,7*	1,78±1,8*	0,084	1,8±1,8*	1,81±0,2	0,791
Latencia onda III	3,9±3,96*	4±0,2	0,366	3,94±3,8*	4±0,3	0,4
Latencia onda V	5,7±0,3	5,9±0,27	0,275	5,7±6,2*	5,9±6*	0,75
Intervalo I-III	2,28±2*	2,2±0,11	0,9	2,1±2,1*	2,16±0,2	0,3
Intervalo III-V	1,8±1,96*	1,86±0,2	0,6	1,87±1,8*	1,94±0,2	0,2
Intervalo I-V	4±3,8*	4,1±4,3*	0,9	3,93±3,1*	4,2±4,2*	0,2

Abreviaturas: DE: Desviación estándar. EA: Enfermedad de Alzheimer. CT: Control. OD: Oído Derecho. OI: Oído Izquierdo. p: Probabilidad estadística. UTM: umbral tonal medio. VA: Vía Aérea. VO: Vía Ósea. OEA: Oto-Emissiones Acústicas. Au: Ausentes. Pr: Presentes. \*Para estos valores se presentan los datos descriptivos con la mediana debido a que la variable no sigue una distribución normal.

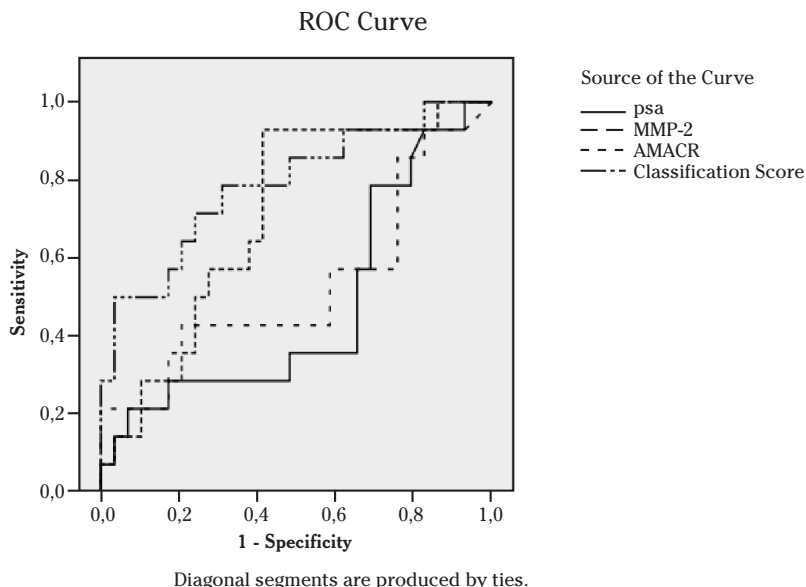
## Uso de un “cocktail” de marcadores moleculares en suero y orina para mejorar la detección del cáncer prostático

C. Prior<sup>1</sup>, F. Guillén-Grima<sup>2</sup>, J. M. Fernández-Montero<sup>3</sup>, J. E. Robles<sup>3</sup>, D. Rosell<sup>3</sup>, X. Agirre<sup>4</sup>, A. Remírez<sup>4</sup>, R. Catena<sup>1</sup>, A. Calvo<sup>1</sup>

1. Laboratorios de Nuevas Dianas Terapéuticas.
2. Departamento de Medicina Preventiva. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona.
3. Departamento de Urología. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona.
4. Área de Oncología. CIMA. Universidad de Navarra.

**Introducción.** El cáncer de próstata es el tipo de cáncer más común entre los varones. La detección precoz de cáncer de próstata se basa en la determinación de los niveles séricos de PSA y tacto rectal, pero el diagnóstico confirmatorio requiere biopsia prostática. El test del PSA, aunque tiene una alta sensibilidad, carece de especificidad, de tal modo que un alto porcentaje de varones con PSA por encima del valor umbral (4 ng/mL) tiene que ser sometido a una biopsia innecesaria. Esta situación ha motivado la búsqueda de nuevos marcadores que puedan determinar de modo no invasivo y más preciso que el PSA, qué individuos se beneficiarán realmente del procedimiento de biopsia. Por tanto, el objetivo de nuestro estudio fue el análisis “multiplex” de un conjunto de marcadores moleculares en fluidos biológicos (muestras de orina y sangre) para mejorar el diagnóstico del cáncer prostático.

**Material y Métodos.** Se recogieron muestras de sangre y orina de 113 individuos con edades comprendidas entre los 41 y 80 años. Se recogieron también de cada paciente parámetros clínicos, como grado Gleason, TNM, volumen tumoral, etc. Los marcadores moleculares que analizamos en nuestro estudio fueron los siguientes: Hipermetilación de GSTP-1 y RASFF1A (evaluado mediante PCR específica de metilación (MSP) en orina), niveles séricos de la metaloproteasa de matriz-2 (MMP-2) y nivel de autoanticuerpos contra la proteína AMACR (*-methylacyl-CoA racemase*). Se determinó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y análisis del área bajo la curva ROC (*receiver operator characteristics*) (AUROC) para cada variable y para la combinación de variables.



**Figura 1.** Curvas AUROC para los distintos biomarcadores empleados. “Classification score” indica el análisis “multiplex” de combinación de marcadores.

**Resultados.** Se detectó cáncer prostático en 34 individuos e hiperplasia benigna de la próstata en 64. El resto de individuos (n=15) mostraron una próstata normal. Las AUROC para PSA, AMACR y MMP-2 fueron 0,467, 0,532 y 0,706, respectivamente. La sensibilidad y especificidad para el análisis de metilación fue 53,3% y 45,9%, respectivamente. El análisis "multiplex" usando la combinación de marcadores dio lugar a una AUROC de 0,788, que fue significativamente superior a la del PSA (p=0,0033) y a la de AMACR (p=0,0375) (Fig. 1). La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para el análisis "multiplex" fueron de 57,1%, 96,6%, 88,9% y 82,4%, respectivamente (Tabla 1).

**Conclusiones.** Nuestros resultados muestran que el análisis combinado de los siguientes marcadores moleculares: metilación de GSPT1/RASSF1A, niveles séricos de MMP-2 y respuesta humoral contra AMACR en muestras de suero/orina, mejora de modo muy significativo la capacidad diagnóstica del PSA. Nuestras estimaciones indican que, según nuestros resultados, se podrían evitar hasta un 96% de las biopsias innecesarias que se practican actualmente para la detección de este tipo de tumor. Estudios futuros deben determinar si nuestro test molecular puede ser aplicado de modo coste/efectivo en un número mayor de individuos.

**Tabla 1.** Sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, para cada marcador individual y la combinación (SCORE).

Biomarcador	% Sensibilidad	% Especificidad	% VPP[95%CI]	% VPN[95%CI]
PSA	97,1[82,9-99,8]	17,7[10,4-28,3]	33,7[24,6-44,0]	93,3[66,0-99,7]
MMP-2	24,1[11-43,4]	78,6[66,8-87,1]	31,8[14,7-54,4]	71,4[59,8-80,9]
AMACR	31[16-51]	82,3[70,1-90,4]	45,0[23,8-68]	71,8[59,7-81,6]
METILACIÓN	53,3[27,4-77,7]	45,9[29,8-62,49]	28,6 [14-48,9]	70,8[48,8-86,6]
SCORE	57,1 [29,6-81,2]	96,6[80,4-99,8]	88,9[50,7-99,4]	82,4[64,8-92,6]

## Estrés oxidativo en el Síndrome Metabólico: papel del sistema enzimático de la NADPH oxidasa

G. Zalba, M. U. Moreno, G. San José, O. Beloqui, A. Fortuño, J. Díez

Fundación para la Investigación Médica Aplicada. Área de Ciencias Cardiovasculares. Universidad de Navarra. Pamplona.

### FUNDAMENTO

El síndrome metabólico es una enfermedad multifactorial que engloba características de las patologías hipertensiva, diabética y aterosclerótica, en conjunción con el desarrollo de la obesidad. Se trata de una patología emergente en las sociedades industrializadas que, no obstante, presenta ya una creciente prevalencia que eleva significativamente el riesgo de padecer accidentes cardiovasculares.

Uno de los mecanismos que subyacen al síndrome metabólico es el estrés oxidativo. La principal fuente productora de anión superóxido ( $O_2^-$ ) en la vasculatura es el sistema NADPH oxidasa, presente en todos los tipos celulares de la pared vascular, incluidos los monocitos/macrófagos. Esta oxidasa está constituida por dos subunidades de membranas (gp91phox y

p22phox) y varios componentes citosólicos (p40phox, p47phox y p67phox, y rac1/2). Numerosos trabajos han mostrado una mayor actividad de la NADPH oxidasa vascular en diversos modelos de hipertensión, de aterosclerosis y de diabetes. Algunos trabajos apuntan ya a su implicación en el síndrome metabólico. De hecho, la NADPH oxidasa participa en el estrés oxidativo presente en modelos animales de diabetes y obesidad. Así mismo, se ha descrito que una mayor producción de anión superóxido en las células fagocíticas puede desempeñar un papel importante en las alteraciones características de las patologías cardiovasculares y del síndrome metabólico. Si bien los trabajos publicados hasta la actualidad son escasos, éstos sugieren que el aumento en la producción de anión superóxido se ve favorecida en situaciones patológicas que se asocian con un daño importante del endotelio vascular.

Con estos antecedentes proponemos que en los pacientes con síndrome metabólico, la NADPH oxidasa de las células fagocíticas se encuentra activada y participa activamente en las alteraciones vasculares asociadas con un mayor estrés oxidativo. Esta activación sería la consecuencia de cambios en los niveles de expresión de los distintos componentes de la NADPH oxidasa, así como la consecuencia de la expresión diferencial de alguna de las isoformas propias de las subunidades de la enzima.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se llevó a cabo en una población compuesta por 183 individuos que se sometían a un examen rutinario en nuestro centro. De entre ellos, 56 pacientes presentaban síndrome metabólico (SM). El diagnóstico de SM se estableció cuando tres o más de las siguientes alteraciones estaban presentes: obesidad central, definida por una circunferencia de cintura >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres; hipertrigliceridemia, definida por unos niveles de triglicéridos  $\geq 1,695$  mmol/l; bajo HDL-colesterol, definido como un HDL-colesterol <1,036 mmol/l en hombres y <1,295 mmol/l en mujeres; presión arterial elevada, definida por una presión arterial sistólica  $\geq 130$  mm Hg, una presión arterial diastólica  $\geq 85$  mm Hg o por el uso de medicación antihipertensiva; hiperglucemia, definida como unos niveles de glucosa  $\geq 6,1$  mmol/L. Un grupo de 99 pacientes no exhibían SM aunque presentaban uno o dos de los factores de riesgo cardiovascular convencionales (grupo FRC), entre los que se incluían la hipertensión, la obesidad, la dislipemia o la diabetes. Finalmente, 28 sujetos sanos con ausencia de FRC constituyeron el grupo control.

Las células fagocíticas mononucleadas se aislaron a partir de muestras sanguíneas mediante un gradiente de Ficoll. La actividad NADPH oxidasa se determinó quimioluminiscentemente empleando lucigenina 10  $\mu$ M, en células mononucleadas estimuladas con el éster de forbol PMA (2 mg/L). La expresión proteica de las subunidades de la NADPH oxidasa se determinó por Western blot. Los niveles plasmáticos de nitrotirosinas y LDL oxidadas se valoraron mediante el empleo de elisas comerciales.

**RESULTADOS**

Las características demográficas y clínicas de los sujetos estudiados se resumen en la tabla 1. Como era de esperar, los pacientes con SM presentaban unos valores más altos de circunferencia de cintura, de índice de masa corporal, de presión arterial sistólica, de glucosa, de triglicéridos y de insulina, y más bajos de HDL-colesterol, en comparación con los pacientes de los grupos FRC y control. Además, los pacientes con SM exhibían un espesor intima media carotídeo aumentado con respecto al de los pacientes de los grupos FRC y control.

La actividad NADPH oxidasa era más alta ( $P < 0,05$ ) en el grupo de pacientes con SM (24,3 $\pm$ 2,6 cuentas/seg) que en el grupo control (7,6 $\pm$ 0,3 cuentas/seg) y de pacientes FRC (13,5 $\pm$ 0,9 cuentas/seg) (Fig. 1). Los niveles de expresión de la subunidad p22phox de la NADPH oxidasa eran más altos ( $P < 0,05$ ) en los pacientes con SM (2,1 $\pm$ 0,4 unidades arbitrarias) que en los pacientes con FRC (0,7 $\pm$ 0,2 UA) y en los controles (1,0 $\pm$ 0,2 UA). No encontramos diferencias entre los tres grupos en la expresión de las otras subunidades de la NADPH oxidasa.

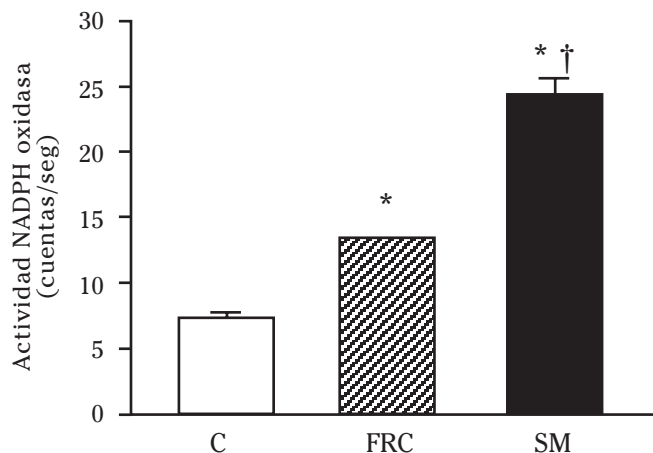
Los niveles plasmáticos de LDL oxidadas eran más altos ( $P < 0,05$ ) en el grupo SM (78 $\pm$ 0,2 U/L) que en el grupo FRC (64 $\pm$ 0,1 U/L) y en el grupo control (62 $\pm$ 0,1 U/L). Así mismo, los niveles plasmáticos de nitrotirosinas estaban elevados ( $P < 0,05$ ) en el grupo SM (5,8 $\pm$ 0,9 nmol/L) en comparación con el grupo FRC (2,6 $\pm$ 0,2 nmol/L) y el grupo control (2,8 $\pm$ 0,3 nmol/L). Es interesante destacar que la actividad NADPH oxidasa correlacionó positivamente tanto con los niveles de LDL oxidadas como con los niveles de nitrotirosinas ( $r = 0,334$ ,  $P = 0,004$ ).

Dado que se ha postulado que el establecimiento de la resistencia a las acciones de la insulina se asocia con el riesgo cardiovascular, procedimos a analizar la activación de la NADPH oxidasa en los pacientes con SM, clasificados como resistentes a la insulina (RI) o sensibles a la insulina (SI), definidos en base al índice HOMA. La actividad NADPH oxidasa en células fagocíticas de pacientes con SM era más alta ( $P < 0,05$ ) en los pacientes RI (26,3 $\pm$ 2,4 cuentas/seg) que en los pacien-

**Tabla 1.** Características demográficas y clínicas de los individuos incluidos en el estudio.

	Control	CRF	MetS
Sexo, m/f	20/8	82/17	44/12
Edad, años	49 $\pm$ 2	55 $\pm$ 1*	57 $\pm$ 2*
IMC, kg/m <sup>2</sup>	25,3 $\pm$ 0,6	28,0 $\pm$ 0,4*	31,2 $\pm$ 0,6*†
Circunferencia cintura, cm	90 $\pm$ 2,3	92 $\pm$ 3,7	104 $\pm$ 2*†
Glucosa, mmol/l	5,0 $\pm$ 0,1	5,4 $\pm$ 0,1*	6,4 $\pm$ 0,2*†
Insulina, $\geq$ U/ml	7,0 $\pm$ 0,3	12,6 $\pm$ 0,6*	17,5 $\pm$ 1,1*†
Presión arterial sistólica, mmHg	111 $\pm$ 2	133 $\pm$ 2*	139 $\pm$ 2*†
Presión arterial diastólica, mmHg	72 $\pm$ 1	84 $\pm$ 1*	85 $\pm$ 1*
Colesterol total, mmol/l	5,69 $\pm$ 0,23	5,87 $\pm$ 0,10	5,74 $\pm$ 0,16
LDL-colesterol, mmol/l	3,85 $\pm$ 0,21	4,01 $\pm$ 0,08	3,88 $\pm$ 0,13
HDL-colesterol, mmol/l	1,40 $\pm$ 0,01	1,27 $\pm$ 0,01*	1,03 $\pm$ 0,01*†
Triglicéridos, mmol/l	0,93 $\pm$ 0,04	1,18 $\pm$ 0,04*	1,74 $\pm$ 0,08*†
EIM carotídeo, mm	0,61 $\pm$ 0,02	0,64 $\pm$ 0,01	0,77 $\pm$ 0,03*†

IMC, índice de masa corporal; EIM, espesor intima-media. \* $P < 0,05$  comparado con control; † $P < 0,05$  comparado con FRC



**Figura 1.** La actividad NADPH oxidasa se determinó en células fagocíticas de sujetos control (C) y pacientes con FRC y con SM. \* $P < 0,05$  comparado con el grupo C. † $P < 0,05$  comparado con el grupo FRC.

tes SI ( $18,6 \pm 1,7$  cuentas/seg). De acuerdo con estos datos, encontramos una mayor abundancia de la proteína p22phox ( $P < 0,05$ ) en los pacientes RI ( $2,4 \pm 0,3$  UA) que en los pacientes SI ( $1,0 \pm 0,2$  UA).

Recientemente se ha determinado que el límite normal superior para la actividad NADPH oxidasa es de 22,8 cuentas/seg, calculado con un 99% de confianza en una población control. La actividad NADPH oxidasa por encima de este valor se considera anormalmente alta. En los pacientes con SM y con SI, el riesgo cardiovascular es similar entre los individuos con una actividad NADPH oxidasa normal ( $0,55 \pm 0,11\%$ ) y aquellos con una actividad NADPH oxidasa anormalmente alta ( $0,41 \pm 0,10\%$ ). Sin embargo, entre los pacientes con SM y con RI, el riesgo cardiovascular estaba incrementado ( $P < 0,05$ ) en los pacientes con una actividad NADPH oxidasa anormalmente alta ( $1,43 \pm 0,21\%$ ) comparado con la de aquellos que presentaban una actividad NADPH oxidasa normal ( $0,73 \pm 0,11\%$ ).

## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en nuestro estudio demuestran por primera vez una evidencia de la activación de la NADPH oxidasa fagocítica en pacientes con síndrome metabólico. Además, nuestros hallazgos sugieren que la activación de esta oxidasa se asocia con una situación de estrés oxidativo sistémica y con la aterosclerosis en estos pacientes.

Nuestros resultados sugieren también un papel crucial de la hiperinsulinemia en la activación de la NADPH oxidasa en estos pacientes. De hecho, cuando estudiamos a los pacientes con síndrome metabólico, diferenciando entre los que son sensibles a las acciones de la insulina (SI) de los que son resistentes a las mismas (RI), encontramos que es en los pacientes con SM y con RI en los que la activación de la NADPH oxidasa fagocítica es máxima. Cabe destacar que es precisamente en los pacientes con síndrome metabólico y con RI en los que encontramos el mayor riesgo cardiovascular.

## Implicación del gen WT1 y de su diana molecular la anfiringulina en la desdiferenciación y la transformación neoplásica del hígado.

J. Castillo, M. J. Perugorria, E. Erroba, J. Prieto, M. A. Ávila, C. Berasain

División de Hepatología y Terapia Génica. CIMA. Universidad de Navarra.

### FUNDAMENTO

En un proyecto anterior nuestro grupo demostró la inducción de la expresión del factor de transcripción Wilms' tumor 1 (WT1), en el hígado de pacientes con cirrosis hepática y su asociación con el daño y con la desdiferenciación del hepatocito. Esta desdiferenciación sería en gran medida responsable de la pérdida de función hepática durante la evolución de la cirrosis a la insuficiencia hepática y sugiere que la inducción de WT1 podría participar en la transformación neoplásica del hígado. La anfiringulina (AR), un factor de crecimiento de la familia del EGF (epidermal growth factor), es una diana reconocida de WT1. Su expresión, no se detecta en hígado normal, pero ha sido asociada a través de mecanismos autocrinos con el desarrollo de diferentes tumores. Nuestros datos muestran que la expresión de la AR está inducida en la cirrosis, correlacionándose con la de WT1, y que tanto la AR como WT1 se expresan en hepatocarcinomas (HCC) humanos. Estos datos nos permiten plantear la hipótesis de que la AR puede participar en la regeneración del tejido hepático tras una lesión, y que su expresión puede estar regulada por WT1. Además, la expresión persistentemente inducida de la AR en el hígado cirrótico podría contribuir, actuando como un factor de crecimiento autocrino, a la transformación neoplásica del hígado. Sobre la base de estos resultados preliminares y de los antecedentes ya publicados, en el presente proyecto nos propusimos como objetivo general evaluar la relevancia funcional del eje WT1/AR durante la lesión hepática y la transformación neoplásica del hígado. En concreto nos planteamos dos objetivos:

1. Estudiar el papel oncogénico de WT1 en el hígado e identificar sus dianas.
2. Estudiar la regulación de la expresión génica de WT1 y de la AR y su relevancia en el daño y la regeneración hepática.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Modelos animales

Se dispone de una colonia de ratones nulos para la AR y de sus correspondientes controles. En ambas cepas se realizaron hepatectomías del 70% y ensayos de daño hepático agudo mediante inyección intraperitoneal (i.p.) de tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>), de un anticuerpo agonista del receptor Fas (Jo2) o de lipopolisacárido (LPS). Se utilizaron ratones atímicos para estudiar la capacidad de implantación de tumores subcutáneos a partir de células transfectadas para sobreexpresar la AR.

#### Modelos in vitro

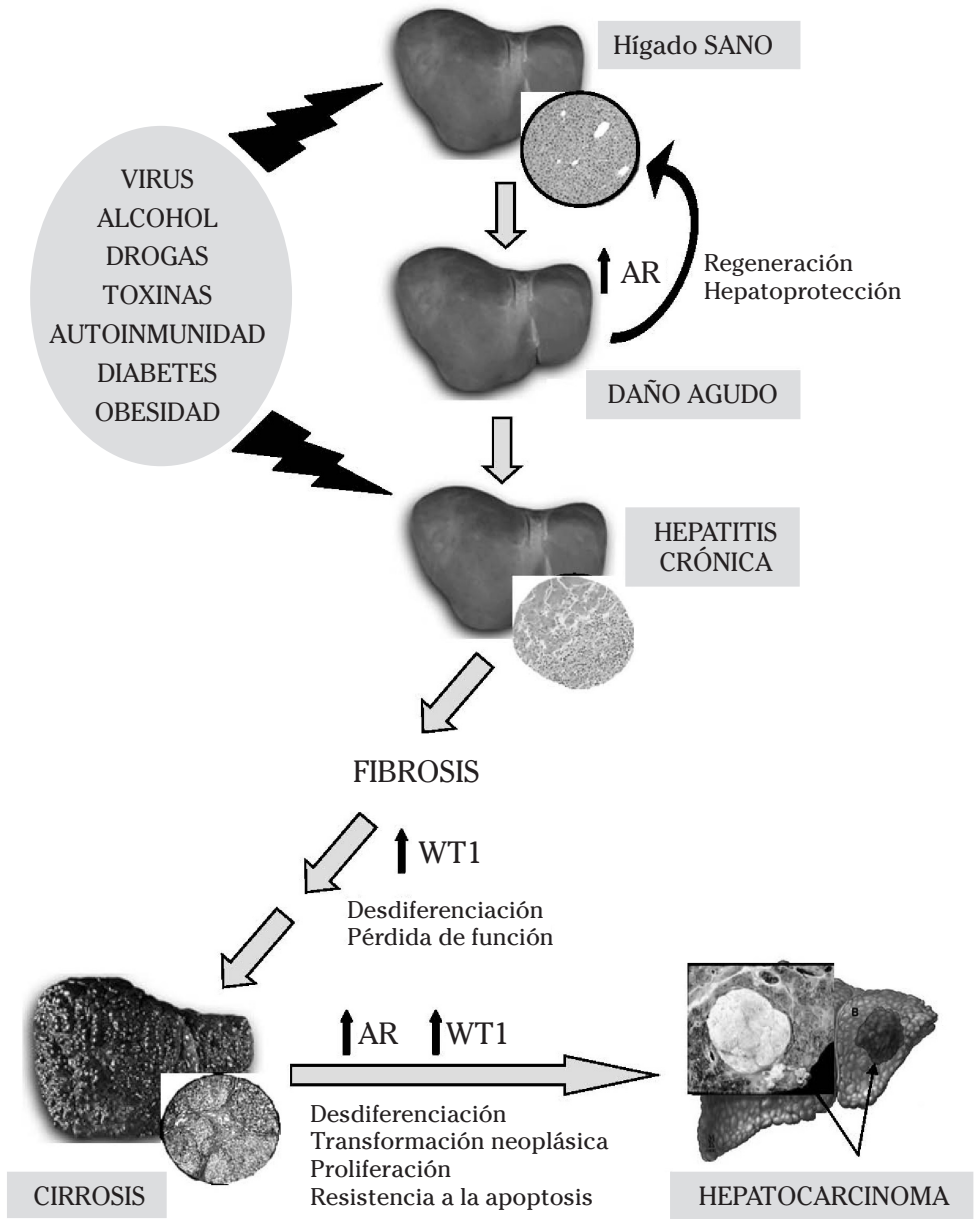
Se aislaron mediante perfusión hepatocitos de rata y ratón. Se utilizaron líneas celulares de HCC humano

que se transfectaron con plásmidos de sobreexpresión de AR y con siRNAs control y específicos para el silenciamiento de WT1 y AR. Las células se trataron con AR, con diferentes quimioterápicos y con inhibidores de diferentes vías de señalización. Se realizaron ensayos de proliferación y de apoptosis y análisis de expresión de mRNA mediante PCR a tiempo real y microarrays y de proteínas mediante western blot, inmunocitoquímica y ELISA.

### RESULTADOS

#### Papel oncogénico de WT1 en el hígado e identificación de sus dianas

- La expresión de WT1 está inducida en el HCC. La expresión de WT1 está inducida en el 40% de las muestras de HCC humano analizadas. De las cuatro líneas de HCC humano estudiadas, las PLC/PRF/5 y las HepG2 expresan elevados niveles de WT1, sin embargo, las líneas Hep3B y HuH7 expresan niveles aunque detectables, significativamente inferiores.
- WT1 participa en la resistencia de las células de HCC a la anoikis, muerte inducida por la ausencia de adhesión a sustrato. Analizamos el posible papel de WT1 en la proliferación de las células de HCC. El silenciamiento de la expresión de WT1 en las líneas de HCC no modificó su capacidad de proliferación en condiciones normales. Sin embargo, este silenciamiento redujo significativamente la capacidad de las células de HCC de proliferar en ausencia de adhesión a sustrato, característica de las células cancerosas que está relacionada con su agresividad.
- El patrón de expresión génica regulado por WT1 en las células de HCC está relacionado con la desdiferenciación, la resistencia a la apoptosis y la progresión tumoral. Para identificar las dianas de WT1 en el HCC se comparó mediante microarrays, el patrón de expresión génica de las células PLC/PRF/5 transfectadas con los siRNAs específicos de WT1 con el de las células transfectadas con un siRNA control. Se encontraron 251 genes inducidos y 321 inhibidos tras el silenciamiento de la expresión de WT1. El 90% de los genes inducidos son genes metabólicos entre los que se encuentran muchos genes característicos del hepatocito maduro (HNF4, albúmina, transtiretina, etc). Entre los genes inhibidos tras el silenciamiento de WT1 se encuentran numerosos oncogenes, cuya expresión se ha descrito inducida en el HCC (IGFBP1, H19, Tbx3, CTGF, ID1, etc), y genes implicados en supervivencia (Bcl-X, Bcl-w, DECI, etc).
- La expresión de WT1 confiere resistencia al quimioterápico doxorubicina (DOX). El papel antia-



**Figura 1.** Papel del factor de transcripción Wilms' tumor 1 (WT1) y del factor de crecimiento anfirregulina (AR) en la lesión hepática y la transformación neoplásica del hígado. La inducción de la expresión de la AR ante cualquier insulto agudo permitiría la regeneración y supervivencia de los hepatocitos. La persistencia del daño con la continua muerte de los hepatocitos, inflamación y procesos de curación asociados a la deposición de matriz extracelular y al desarrollo de fibrosis, resultarían en la inducción de WT1. La expresión de WT1 permitiría la dediferenciación de los hepatocitos y la inducción de la expresión de oncogenes y genes de supervivencia. Así mismo, la expresión continuada de la AR contribuiría a la transformación neoplásica de los hepatocitos.



poptótico de WT1 en el HCC se confirmó al comprobar que el silenciamiento de WT1 sensibilizaba a estas células a la apoptosis inducida por DOX, quimioterápico utilizado en el tratamiento del HCC con poca eficacia. Además comprobamos que la DOX, así como otros quimioterápicos que actúan inhibiendo la topoisomerasa II, induce la expresión de WT1 tanto en las células de HCC, incluso en aquellas que presentan una expresión basal prácticamente indetectable, como en los hepatocitos normales. Esta inducción y el papel oncogénico de WT1 podrían explicar la aparición de neoplasias secundarias en pacientes tratados con estos quimioterápicos.

#### **Estudio de la regulación de la expresión génica de WT1 y de la AR y de su relevancia en el daño y la regeneración hepática**

- La expresión de la AR se induce tras hepatectomía parcial (HP) o tras un daño hepático agudo. La expresión de WT1 no se modificó tras HP o daño hepático agudo. Sin embargo, la expresión de la AR, indetectable en el hígado sano se indujo rápidamente tras HP o inyección i.p. de CCl4, de Jo2 o LPS.
- La AR es un mitógeno para los hepatocitos y participa en el correcto inicio de la regeneración hepática. Utilizando hepatocitos en cultivo, demostramos que la AR induce su proliferación a través del receptor EGFR y las vías de las quinasas ERK, Akt y JNK. De acuerdo con ello, observamos cómo el inicio de la regeneración hepática tras HP en los ratones nulos para la AR, está significativamente retrasado.
- La AR es un factor hepatoprotector. La administración de AR protege a los ratones de un daño hepático agudo inducido por inyección i.p. de CCl4 o Jo2. Los ratones nulos para la AR son más sensibles a dosis letales de Jo2. La AR actúa protegiendo a los hepatocitos frente a la apoptosis a través del receptor EGFR y la vía de Akt.
- La AR se sobreexpresa en cirrosis y en HCC e induce la proliferación de las células de HCC. La expresi

ón de la AR indetectable en el hígado sano está inducida en el 75% de los hígados cirróticos, en el 70% de las muestras de HCC humano y en 4 de las 5 líneas de HCC humano testadas. El tratamiento con AR de las células de HCC induce su proliferación.

- Un bucle autocrino mediado por la AR modula propiedades neoplásicas de las células de HCC. El silenciamiento de la expresión de AR mediante siRNAs específicos reduce significativamente la supervivencia de las células de HCC tanto en condiciones normales como en ausencia de adhesión a sustrato. Además las células con la expresión de AR inhibida son más sensibles a la apoptosis inducida por TGFbeta o doxorubicina. Por el contrario la sobreexpresión de AR en las células de HCC aumenta su capacidad de proliferación y de inducción de tumores en ratones.

#### **CONCLUSIONES**

La inducción de la expresión del factor de transcripción WT1 en la fibrosis y la cirrosis hepáticas participa en la desdiferenciación de los hepatocitos y en su pérdida de función. Su expresión sostenida resultaría en la transformación neoplásica del hígado contribuyendo al mantenimiento de un fenotipo desdiferenciado y a la activación de la expresión de genes oncogénicos y antiapoptóticos (Fig. 1). Por su parte ante cualquier insulto o daño hepático agudo se produce una rápida inducción de la expresión de la AR, que participa en la regeneración y protección de los hepatocitos. La expresión sostenida de la AR ante un daño continuado o crónico permitiría la transformación y supervivencia de los hepatocitos, constituyéndose un bucle autocrino, en el que la AR es un factor muy importante en el mantenimiento de las propiedades neoplásicas de las células de HCC (Fig. 1). Nuestros datos demuestran que la AR puede ser un candidato para el tratamiento del daño hepático agudo. Así mismo, WT1 y AR pueden ser considerados importantes nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento del HCC.

---

## **Análisis de correlación entre el patrón molecular de los genes CDH-1 y SIAH-1 y las características clínicas y anatomopatológicas de pacientes navarras con carcinoma ductal de mama esporádico**

**F. Vicente García**

Servicio de Cirugía General. Hospital de Navarra.

**Introducción.** El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea y los tumores son clasificados según subtipos de expresión. El empleo de cultivos primarios es una herramienta útil en ensayos *in vitro* dado que conservan muchas de las características tumorales intactas. La adhesión celular mantiene la citoarquitectura tisular y su alteración contribuye a la progresión tumoral en cáncer de mama. Hemos analizado en el presente proyecto las asociaciones entre la reducción de expresión, la migración celular en cámaras de invasión y la hipermetilación de los genes CDH-1 y TLSC-1, así como las asociaciones entre las características anatomopatológicas, moleculares y clínicas, y su distribución de acuerdo a los subtipos luminal, Her2, basal y normal en 60 pacientes con cáncer ductal invasivo de mama sin metástasis a distancia en el momento del diagnóstico (M0).

**Material y métodos.** La expresión de E-cadherina ha sido analizada mediante Western blot en las fracciones epiteliales de cultivos celulares mediante inmunohistoquímica en secciones de parafina. La invasión celular fue analizada mediante ensayos *in vitro* en cámaras de invasión de Boyden. Analizamos la hipermetila-

ción de los genes CDH-1, RASSF1-A, SIAH-1 y TSLC-1 mediante Methylation-Specific PCR y la expresión de p53, bcl-2, ciclina D1, E-cadherina, y beta-catenina en tissue microarrays mediante inmunohistoquímica.

**Resultados.** De los 60 cultivos celulares preparados 26 fueron viables (43%), y esta viabilidad estaba directamente asociada al grado histológico desfavorable. La reducción de la expresión de E-cadherina, hipermetilación de TSLC-1, alta proliferación de ki-67, y metástasis tumoral durante el seguimiento están claramente correlacionados con la migración celular. La expresión de Bcl-2 se asociaba al subtipo luminal ( $p=0,003$ ) y la hipermetilación de CDH-1 está presente preferentemente en los tumores Her-2 ( $p=0,038$ ). El subtipo basal está caracterizado por la expresión de beta-catenina ( $p=0,003$ ).

**Conclusiones.** La hipermetilación de CDH-1 y la expresión de bcl-2, ciclina D1 y beta-catenina difieren entre los subtipos de cáncer de mama. Estos hallazgos indican que el uso de los cultivos primarios a corto plazo junto con los ensayos de invasión y el análisis molecular ayudan a identificar tumores de mama más agresivos.

---

## **Nuevos marcadores circulantes de activación macrofágica en la aterosclerosis clínica y subclínica**

**J.A. Páramo, J.A. Rodríguez, C. Roncal, M.S. Belzunce, J. Orbe**

Laboratorio de Aterosclerosis. CIMA. Universidad de Navarra.

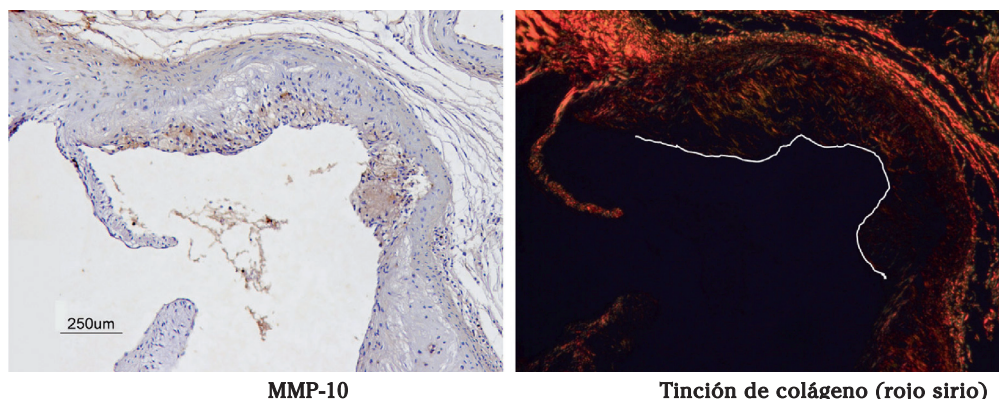
**Fundamento.** La aterosclerosis progresa a través de una serie de etapas en las que la actividad inflamatoria y proteolítica a nivel de la placa de ateroma son de importancia crucial y pueden ser determinantes en su evolución, estabilidad y ruptura. La trombosis a nivel de una placa aterosclerótica vulnerable es responsable de síndromes clínicos como infarto agudo de miocardio e ictus isquémico, principales causa de mortalidad en España y en la Comunidad Foral de Navarra (Plan de Salud de Navarra 2006-2012). La activación de los macrófagos en la lesión aterosclerótica induce la secreción de diversos enzimas que degradan la matriz extracelular (MEC) y debilitan la capa fibrosa. La degradación de las proteínas de la MEC a nivel vascular

constituye, por consiguiente, una fase crucial en el desarrollo de la aterosclerosis. El principal sistema encargado de la degradación enzimática de la MEC es el sistema de las metaloproteasas (MMPs). La inhibición de este sistema se lleva a cabo por acción de inhibidores específicos (TIMPs). Diversas patologías, como la hipercolesterolemia familiar (HF), se caracterizan por elevadas concentraciones de LDL-colesterol y el desarrollo de aterosclerosis prematura y acelerada. Es interesante resaltar que un 40% de individuos con hipercolesterolemia familiar desarrollan xantomas tendinosos y presentan un riesgo mucho mayor de padecer enfermedad coronaria

Este estudio se realizó partiendo de la hipótesis que el conocimiento del patrón de expresión de los macrófagos estimulados con LDL de pacientes con HF permitiría identificar genes candidatos para intervención terapéutica, así como su posible utilización como marcadores de riesgo ateroesclerótico. A partir del análisis de los microarrays, se ha seleccionado un conjunto de genes con los que se pretende establecer su participación en la ateroesclerosis. Para ello se han diseñado estudios a nivel experimental, ratones deficiente en apolipoproteína E (apoE<sup>-/-</sup>), que desarrollan ateroesclerosis espontánea, y clínico (pacientes con ateroesclerosis), para un mejor conocimiento de los mecanismos inflamatorios que subyacen en la génesis de este proceso.

**Resultados.** Se ha seleccionado un conjunto de genes cuya sobreexpresión se asocia a las LDLs de individuos con HF y xantomas: TPSβ1, TPSα2, triptasa β1, IER3, CXCL3, HLA-DQA1, quitotriosidasa, IL-1, IL-8, TNF-α, PPAR-γ; COX-2, IL-6, MMP-8 y -10, TIMP-1, PAI-1, PTGER-4, VEGF y VEGFR-1.

De entre los genes de interés, nos hemos centrado en el estudio de la MMP-10 y el TIMP-1, su principal inhibidor fisiológico, porque nuestro grupo investigador es pionero en el estudio de esta metaloproteasa en relación con la patología cardiovascular, y el TIMP-1 sigue una regulación paralela asociada al proceso ateroesclerótico. Mientras que no se observó expresión de MMP-10 en las arterias sanas de los ratones apo E<sup>-/-</sup>, la expresión de esta metaloproteasa está aumentada tanto a nivel de mRNA como de proteína en las arterias ateroescleróticas, colocalizando con áreas de escaso contenido en colágeno (regiones vulnerables) (Fig. 1). La expresión selectiva de la MMP-10 en la pared vascular ateroesclerótica nos llevó al estudio de los niveles circulantes de esta proteína en una población de 400 sujetos asintomáticos desde el punto de vista cardiovascular, demostrando una asociación significativa de la concentración sérica de MMP-10, tanto con marcadores pronóstico de riesgo ateroesclerótico (proteína C-reactiva e índice de riesgo PROCAM), como con el espesor intima-media de la carótida, un marcador de diagnóstico precoz no invasivo en ateroesclerosis subclínica (Tabla 1).



**Figura 1.** Expresión vascular de MMP-10 (panel izquierdo) y tinción Sirio rojo para colágeno (panel derecho) en la aorta de ratones deficientes en apolipoproteína E (apo E<sup>-/-</sup>).

**Tabla 1.** Correlación de MMP-10 entre los niveles séricos de MMP-10, marcadores inflamatorios y el EIM carotídeo en sujetos con factores de riesgo ateroesclerótico.

	MMP-10	EIM carotídeo
Edad, años	0,17***	0,41***
IMC, kg/m <sup>2</sup>	0,1	0,12*
PAS, mmHg	0,06	0,33***
PAD, mmHg	-0,05	0,20**
Glucosa, mg/dL	0,06	0,21***
Colesterol, mg/dL	0,01	0,08
Triglicéridos†, mg/dL	0,03	0,16**
HDL-colesterol, mg/dL	-0,14**	-0,09
LDL-colesterol, mg/dL	0,01	0,08
Fibrinógeno, mg/dL	0,24***	0,02
Factor vonWillebrand, %	0,02	0,20*
Hs-CRP†, mg/L	0,14**	0,03
IL-6†, pg/mL	0,09	0,13
MMP-1, ng/mL	0,03	0,08
MMP-9, ng/mL	0,01	0,08
MMP-10, pg/mL	-	0,17**
PROCAM (varones), %	0,21***	0,39***

**Conclusiones.** La pared vascular aterosclerótica presenta una alteración de la expresión de varias proteínas de carácter inflamatorio e involucradas en el metabolismo de la MEC. Entre las estudiadas destaca la MMP-10, cuya expresión vascular se asocia específicamente a la placa aterosclerótica, tanto en el modelo murino como en el humano. La observación de concentraciones séricas de MMP-10 más elevadas en sujetos con mayor espesor de la íntima carotídea y asociadas

con marcadores inflamatorios nos lleva a proponer que esta proteína pueda constituir un marcador de aterosclerosis subclínica en sujetos sin patología cardiovascular, así como de vulnerabilidad en pacientes con aterosclerosis establecida. La MMP-10 emerge, por consiguiente, como una nueva diana del proceso inflamatorio vascular, por lo que serán necesarios estudios adicionales que demuestren si la modulación de esta MMP se asocia con una reducción de la aterosclerosis.

---

## Valoración experimental y clínica del programa multigénico de metástasis pulmonar a hueso

### F. Lecanda

Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona

#### FUNDAMENTO

El hueso es frecuentemente diana de metástasis en una variedad de tumores sólidos incluido el cáncer de pulmón. Alrededor del 30% de pacientes el estadio I (NSCLC) mueren tras la resección completa del tumor, debido a la presencia de metástasis indetectables al diagnóstico. El tropismo selectivo a hueso es una de las características más relevantes de la metástasis de pulmón, con un 40% de incidencia. La mediana de supervivencia de estos pacientes es inferior a 6 meses, la más baja de todos los tipos de cáncer. Las metástasis a hueso se asocian con dolores refractarios a analgésicos menores por lo que precisan tratamiento con derivados morfínicos, llegando de forma habitual al empleo de dosis elevadas; osteolisis severa que en un porcentaje no desdeñable de casos degenera en compresión medular y fracturas patológicas; y otros trastornos metabólicos como la hipercalcemia. La osteolisis parece estar mediada por factores liberados por las células tumorales, que actúan en el microentorno celular activando la osteoclastogénesis.

Desde un punto de vista molecular, la metástasis es un proceso complejo constituido por múltiples etapas secuenciales entre las que se incluyen: la invasión de células desde el tumor primario a los vasos sanguíneos y linfáticos; la supervivencia en la circulación; la adhesión a células endoteliales; la extravasación a órganos distantes y el crecimiento y neovascularización en el tejido diana. Las interacciones heterotípicas entre las células tumorales y su microentorno celular, el flujo sanguíneo, y otros factores locales y sistémicos, determinan la diseminación de las células tumorales y el tropismo selectivo a diversos órganos. En la base de este proceso existen cambios coordinados de la expresión génica que modulan la actividad celular confiriendo

progresivas ventajas –en la motilidad, adherencia y quimiotaxis– que favorecen el tropismo e invasividad de algunas células del tumor primario adquiriendo la capacidad metastásica. La metástasis viene determinada por el despliegue de un programa genético progresivo que se activa por las interacciones heterotípicas de las células tumorales con el estroma, además de los cambios genéticos y epigenéticos que confieren la adquisición de ciertas ventajas funcionales.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un nuevo modelo de metástasis mediante xenotransplante en animales inmunodeprimidos tras la inoculación intraventricular de células de cáncer de pulmón no microcítico. Tras el aislamiento de subpoblaciones metastásicas se realizó un perfil transcriptómico diferencial utilizando un análisis bioinformático robusto y se seleccionaron varios genes altamente expresados en las subpoblaciones metastásicas. Se validaron funcionalmente en el mismo modelo *in vivo* de forma individual y en combinaciones triples mediante transducción retroviral, valorando la actividad metastásica *in vivo* mediante métodos microrradiográficos, escáner mediante microCT, y bioluminiscencia. Se valoró la actividad de "homing" y de colonización así como el impacto tanto *in vitro* como *in vivo* de la influencia del TGF- $\beta$  del estroma óseo. Finalmente se evaluó *in vitro* e *in vivo* el impacto del perfil metastásico sobre la actividad osteoclastogénica y metaloproteolítica.

#### RESULTADOS

Se identificó un nuevo perfil transcriptómico en las subpoblaciones altamente metastásicas en el que se seleccionaron para el estudio funcional cuatro

genes. Este perfil incluyó a PRKD3, una serin-treonin quinasa que pertenece a la familia de protein-quinasa dependientes de calcio-calmodulina, previamente implicado en la regulación de la señalización intracelular, proliferación, migración y apoptosis. Otro de los genes identificados, MCAM, codifica para una proteína de membrana, que pertenece a una familia de moléculas implicada en la adhesión celular independiente de calcio. También se identificó SUSD5 como perteneciente a una familia potencial de moléculas de adhesión a través de dominio de unión a ácido hialurónico. Y finalmente TCF4, un factor de transcripción de estructura hélice-vuelta-hélice. Algunos de estos genes estuvieron modulados por TGF- $\beta$ , la principal citoquina ósea. La sobreexpresión de forma individual de PRKD3 aumentó ligeramente la actividad metastásica. La combinación triple indujo un aumento muy significativo de la actividad prometastásica en la colonización ósea, pero no afectó a la capacidad de "homing". Los triples sobreexpresantes indujeron un aumento de la actividad osteoclastogénica y metaloproteolítica en ensayos *in vitro*. Finalmente, la inhibición concomitante de la actividad

metaloproteolítica y la actividad osteoclastogénica en un modelo de metástasis *in vivo* aumentó la supervivencia y disminuyó drásticamente la carga tumoral ósea, así como las lesiones osteolíticas en los animales tratados.

### CONCLUSIÓN

Se ha identificado un nuevo conjunto de genes cuyas interacciones funcionales cooperativamente favorecen la colonización ósea. Tres de los 4 genes no habían sido implicados previamente en la actividad metastásica. Estos genes median un nuevo mecanismo de colonización ósea caracterizado por una doble acción mediada por un lado, por la inducción osteoclastogénica, exacerbada en el microentorno óseo por el TGF- $\beta$ , y por otro, por la secreción de una compleja actividad metaloproteolítica. La inhibición farmacológica efectiva del proceso de destrucción ósea en la metástasis requiere bloquear de forma simultánea la resorción osteoclastica inducida por el tumor así como la acción proteolítica deletérea en el interfaz tumor-hueso.

---

## Análisis de factores condicionantes de los servicios de salud y su utilización por las personas inmigrantes, relacionados con la promoción de la salud

R. De Andrés, J.M. Uribe, S. Urmeneta, C. Fuertes, P. Bustince, L. Elizalde, P. García

### INTRODUCCIÓN

La población inmigrante extracomunitaria en Navarra se duplicó en cinco años hasta llegar al 10,87% en 2006. Se diseñó un estudio de investigación para analizar la utilización comparativa de los centros de salud entre población autóctona e inmigrante en seis zonas básicas de salud de Navarra, tanto rurales como urbanas, con alto porcentaje de población inmigrante y que atienden a 86.966 personas (14,43% inmigrantes). Se analizó también la visión sobre inmigración y salud de los profesionales de Atención Primaria (AP).

### OBJETIVOS

Conocer las características de las consultas en centro de salud (CS) de la población inmigrante.

Conocer la visión sobre la inmigración de los profesionales de CS, que influye en los procesos de información, educación (EpS) y promoción de salud (PS) hacia la población inmigrante.

Identificar buenas prácticas en atención a inmigrantes, relacionadas con PS y EpS.

### METODOLOGÍA

Se analizaron los episodios atendidos en 2006 (211.555), según origen, edad y sexo. Se utilizó metodología cuantitativa (análisis de base de datos de tarjeta individual sanitaria (TIS), programas OMI, Access y SPSS14) y cualitativa, (6 grupos de discusión y 5 entrevistas en profundidad).

### RESULTADOS

#### Consultas de inmigrantes en Atención Primaria

Contactaron con el CS un 82% de autóctonos y un 72,4% de inmigrantes. El 70% de inmigrantes tenían 25-44 años y el índice de masculinidad era 1,09.

Utilizan más "visitas al CS" y "derivaciones a especializada" los autóctonos que los inmigrantes ( $p < 0,000$ ), tanto "asentados" (los dados de alta en TIS antes del 2005), como "nuevos". Los inmigrantes tuvieron mayor número de episodios nuevos/persona en el 2006.

La probabilidad de tener al menos 4 visitas al año es mayor para la población autóctona que para la inmi-

grante de forma significativa, independientemente de la edad, la zona o el tiempo de residencia. En el análisis de regresión logística las diferencias se reducen en edades centrales y en mujeres, y se amplían en edades extremas. Esto refuta la idea de que la población inmigrante es más frecuentadora que la autóctona.

El episodio más frecuente en autóctonos e inmigrantes fue "Infección Respiratoria Aguda"(IRA). El 2º en inmigrantes fue "problemas administrativos" (en "nuevos" el 1º). Con inmigrantes se realizan menos actividades preventivas y menos actuaciones relacionadas con estilos de vida (abordaje del tabaquismo).

En población inmigrante son más frecuentes problemas de origen laboral o psicosomático.

Aparece sobreutilización de inmigrantes en problemas ginecobstétricos en CS y más derivaciones a urgencias, posiblemente indicativos de deficiente conocimiento del funcionamiento de los servicios por la población inmigrante.

### **Percepción de los profesionales**

El discurso profesional refleja sentimiento de aislamiento y desamparo institucional respecto a la atención a población inmigrante.

La atención a inmigrantes cualitativamente es percibida como sobrecarga, en especial la acogida. Cuantitativamente su frecuentación es menor que en autóctonos.

Se percibe una "crisis de la AP"; la inmigración tan solo amplifica con más nitidez problemas del propio sistema. La atención individual y medicalizada no resulta útil y se solicita un modelo que recupere el abordaje de situaciones socio-económicas y socio-culturales, con visión de PS, prevención y continuidad de atención.

Es necesario reorientar funciones profesionales y organización de los centros, y reforzar la confianza en el profesional sanitario. El programa informático Ulises ha mejorado la continuidad de la atención al inmigrante.