



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **FACULTAD DE MEDICINA**

Efectos de un Extracto de Uva Enriquecido en Resveratrol en el Perfil Aterogénico, Inflamatorio y Fibrinolítico de Pacientes en Prevención Primaria y Secundaria de Riesgo Cardiovascular. Evidencia en Marcadores y Expresión Génica en dos Ensayos Clínicos Aleatorios de un Año

**D. João Tiago Estêvão Tomé Carneiro**

2013





Centro de Edafología y Biología  
Aplicada del Segura

**Departamento de Ciencia y  
Tecnología de los Alimentos**



Universidad de Murcia

**Facultad de Medicina**

**EFFECTOS DE UN EXTRACTO DE UVA ENRIQUECIDO  
EN RESVERATROL EN EL PERFIL ATEROGÉNICO,  
INFLAMATORIO Y FIBRINOLÍTICO DE PACIENTES EN  
PREVENCIÓN PRIMARIA Y SECUNDARIA DE RIESGO  
CARDIOVASCULAR. EVIDENCIA EN MARCADORES Y  
EXPRESIÓN GÉNICA EN DOS ENSAYOS CLÍNICOS  
ALEATORIOS DE UN AÑO**

**Memoria presentada para optar  
al Grado de Doctor por la  
Universidad de Murcia**

**João Tiago Estêvão Tomé Carneiro**

**2013**



La presente Tesis Doctoral ha dado lugar a las siguientes publicaciones:

**Tomé-Carneiro, J.;** González, M.; Larrosa, M.; García-Almagro, F.J.; Avilés-Plaza, F.; Parra, S.; Yáñez-Gascón, M.J.; Ruiz-Ros, J.A.; García-Conesa, M.T.; Tomás-Barberán, F.; Espín, J.C. (2012). Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients from primary prevention of cardiovascular disease. A triple-blind, 6-months follow-up, placebo-controlled, randomized trial. *Mol. Nutr. Food Res.* 56, 810–821.

**Tomé-Carneiro, J.;** González, M.; Larrosa, M.; Yáñez-Gascón, M.J.; García-Almagro, F.J.; Ruiz-Ros, J.A.; García-Conesa, M.T.; Tomás-Barberán, F.A.; Espín, J.C. (2012). One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease *Am. J. Cardiol.* 110, 356–363.

**Tomé-Carneiro, J.;** González, M.; Larrosa, M.; Yáñez-Gascón, M.J.; García-Almagro, F.J.; Ruiz-Ros, J.A.; Tomás-Barberán, F.A.; García-Conesa, M.T.; Espín, J.C. (2013). Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: A randomised one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 27:37-48.

**Tomé-Carneiro J.,** Larrosa M., Yáñez-Gascón M.J., Dávalos A., Gil-Zamorano J., González M., García-Almagro F.J., Ruiz Ros J.A., Tomás-Barberán F.A., Espín J.C., García-Conesa M.T. (2013). One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in

peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease. *Pharmacol Res.* 72C:69-82.

**Tomé-Carneiro, J.**; Larrosa, M.; González-Sarrías, A.; Tomás-Barberán, F.A.; García-Conesa, M.T.; Espín, J.C. (2012). Resveratrol and Clinical Trials: The Crossroad from in vitro Studies to Human Evidence. *Curr. Pharm. Des.* (En prensa).

**Tomé-Carneiro, J.**; González M.; Larrosa M., Yáñez-Gascón M.J.; García-Almagro F. J.; Ruiz-Ros, J.A.; Tomás-Barberán F.A.; García-Conesa, M.T.; Espín, J.C. (2013). Resveratrol in primary and secondary prevention of cardiovascular disease. A dietary and clinical perspective. *Ann NY Acad Sci.* doi: 10.1111/nyas.12150.

Otras publicaciones del autor realizadas durante el período pre-doctoral y que no se han incluido en la presente Tesis Doctoral:

Larrosa, M.; **Tomé-Carneiro, J.**; Yáñez-Gascón, M.J.; Alcántara, D.; Selma, M.V.; Beltrán, D.; García-Conesa, M.T.; Urbán, C.; Lucas, R.; Tomás-Barberán, F.A.; Morales, J.C.; Espín, J.C. (2010). Preventive oral treatment with resveratrol prodrugs drastically reduce colon inflammation in rodents. *J. Med. Chem.* 53, 7365-7376.

**EFFECTOS DE UN EXTRACTO DE UVA ENRIQUECIDO  
EN RESVERATROL EN EL PERFIL ATEROGÉNICO,  
INFLAMATORIO Y FIBRINOLÍTICO DE PACIENTES EN  
PREVENCIÓN PRIMARIA Y SECUNDARIA DE RIESGO  
CARDIOVASCULAR. EVIDENCIA EN MARCADORES Y  
EXPRESIÓN GÉNICA EN DOS ENSAYOS CLÍNICOS  
ALEATORIOS DE UN AÑO**

**Trabajo realizado para optar al Título de Doctor por la  
Universidad de Murcia**

**João Tiago Estêvão Tomé Carneiro**

**2013**





## *Abreviaturas*



ABC: *ATP-binding cassette*

ACN: acetonitrilo

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADNc: ADN complementario

ALP: fosfatasa alcalina

ALT: alanina aminotransferasa

AMPK: proteína quinasa activada por AMP

AN(C)OVA: analisis de (co)varianza

AP-1: *activator protein 1* (proteína activadora 1)

Apo: apolipoproteína

ARA-II: antagonistas de los receptores AT-1 de la angiotensina II

ARN: ácido ribonucleico

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

AST: aspartato aminotransferasa

bFGF: *basic fibroblast growth factor* (factor de crecimiento de fibroblastos básico)

BRK1: proteína BRICK1

C14orf43: proteína no caracterizada C14orf43

CCL-3: *chemokine ligand 3* (ligando de quimioquina 3 (motivo C-C))

cHDL: *high density lipoprotein cholesterol* (colesterol de lipoproteínas de alta densidad)

cLDL: *low density lipoprotein cholesterol* (colesterol de lipoproteínas de baja densidad)

CML: células musculares lisas

COL18A1: colágeno, tipo XVIII,  $\alpha$  1

COX: *cyclooxygenase* (ciclooxigenasa)

CPK: *creatine phosphokinase* (fosfoquinasa de creatina)

CREB: *cAMP responsive element binding protein*

Ct: ciclo umbral

CXCL1: *chemokine (C-X-C motif) ligand* (ligando de quimioquina (motivo C-X-C))

CYP: *cytochrome P450* (citocromo P450)

DAD: detector UV con red de diodos

DE: desviación estándar

DHRES: dihidroresveratrol

DMSO: dimetil sulfóxido

EC: célula endotelial

ECG: electrocardiograma

ECV: enfermedad cardiovascular

EDTA: ácido etiléndiaminotetracético

EGF-R: *endothelial growth factor receptor* (receptor del factor de crecimiento endotelial)

EIF4B: *eukaryotic translation initiation factor 4B* (factor de iniciación de translación eucariótica 4B)

ELISA: *enzyme linked immunosorbent assay*

ENC: enfermedades no contagiosas

eNOS: sintasa endotelial de óxido nítrico

ERK: proteínas quinasas reguladas por estímulos extracelulares

ESI: *electrospray ionization*

ET-1: endotelina 1

FDR: *false discovery rate* (tasa de falsos positivos)

FSC: *forward scatter* (difusión frontal)

## Abreviaturas

GAPDH: *glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase* (gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa)

GE: *grape extract* (extracto de uva)

GE-RES: *resveratrol enriched grape extract* (extracto de uva enriquecido en resveratrol)

GEO: *gene expression omnibus*

GEPAS: *gene expression pattern analysis suite*

GGT: gamma glutamiltransferasa

GITC: guanidina isotiocianato

GSH: glutatión reducido

GSH-Px: glutatión peroxidada

GST: glutatión S-transferasa

HbA1c: hemoglobina glicada

Hcys: homocisteína

HED: *human equivalent dose* (dosis equivalente en humanos)

HFHC: *high fat high carbohydrates* (rica en grasas y carbohidratos)

HMG-CoA: hidroximetil glutamil coenzima A

HO-1: hemo-oxigenasa-1

HPLC: *high pressure liquid chromatography* (cromatografía líquida de alta resolución)

IAMEST: infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST

IAMSEST: infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST

IC: intervalo de confianza

ICAM-1: molécula de adhesión intercelular 1

IECA: inhibidor de la enzima convertora de angiotensina

IER3: *immediate early response 3*

IFI44: *interferon-induced protein 44* (proteína inducida por interferón 44)

IFN- $\gamma$ : interferón  $\gamma$

IGF-I: *insulin growth factor I* (factor de crecimiento insulínico I)

IGFBP-3: *insulin-like growth factor binding protein 3* (factor de crecimiento insulínico tipo 3)

IL: interleuquina

IM: infarto de miocardio

IMC: índice de masa corporal

iNOS: *inducible nitric oxide synthase* (sintasa inducible del óxido nítrico)

IPA: *ingenuity pathways analysis*

LDLox: LDL oxidada

LRRFIP-1: *leucine-rich repeat flightless-interacting protein 1*

LTB4: leucotrieno B4

LUC7L3: *cAMP regulatory element-associated protein 1* (proteína asociada al elemento regulatorio del cAMP 1)

MCP-1/CCL-2: *monocyte chemoattractant protein 1* (proteína quimioatrayente de monocitos 1) / *chemokine ligand 2* (ligando de quimioquina 2)

MDA: malondialdehído

MEC: matriz extracelular

miR: microARN

MMP: *matrix metalloproteinase* (metaloproteinasa de matriz)

MPO: mieloperoxidasa

MS/MS: detección por espectrómetro de masas

MT-ND6: *mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 6*

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NF- $\kappa$ B: *nuclear factor kappa B* (factor nuclear *kappa B*)

NF $\kappa$ B-1: subunidad p105 del factor nuclear *kappa B*

## Abreviaturas

NF $\kappa$ BIA: inhibidor alfa del factor nuclear kappa B

NO: óxido nítrico

No-HDL: carga aterogénica de lípidos en sangre (restando los valores de cHDL a los de colesterol total)

NOX: NADPH oxidasa

Nrf-2: factor relacionado al factor nuclear eritroide-2

*p53*: tumor protein 53 (proteína tumoral 53)

PAI-1: *plasminogen activator inhibitor type 1* (inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1)

PBMC: *peripheral blood mononuclear cells* (células mononucleares de sangre periférica)

PBS: *phosphate buffer saline* (tampón fosfato salino)

PDGF: factor de crecimiento plaquetario

PGE<sub>2</sub>: *prostaglandin E<sub>2</sub>* (prostaglandina E<sub>2</sub>)

PP: prevención primaria

PS: prevención secundaria

QqQ: triple cuadrupolo

Q-TOF: espectrómetro de masas con analizador de tiempo de vuelo

RES: *trans-resveratrol*

RES-gluc: resveratrol 3-O-glucurónido

RIN: *RNA integrity number* (número de integridad del ARN)

RMA: *robust multi-array average*

ROS: especies reactivas de oxígeno

RNASEK: *ribonuclease  $\kappa$*  (ribonucleasa kappa)

RNPC3: *RNA-Binding Protein 40* (proteína de unión al ARN 40)

RNU6: *U6 small nuclear RNA* (ARN nuclear pequeño U6)

RT-PCR: *reverse transcription-polymerase chain reaction* (transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa)

SCA: síndrome coronario agudo

sCD40L: *soluble CD40 ligand* (ligando CD40 soluble)

SNRPA1: *U2 small nuclear ribonucleoprotein A* (ribonucleoproteína A nuclear pequeña de U2)

SOCS: *suppressor of cytokine signalling* (supresor de la señalización de citoquinas)

SOD: superóxido dismutasa

SSC: *side scatter* (difusión lateral)

STZ: estreptozotocina

T4: tiroxina

T2DM: *type 2 diabetes mellitus* (diabetes mellitus de tipo 2)

TG: triglicéridos

TGF- $\beta$ : *transforming growth factor  $\beta$*  (factor de crecimiento transformante  $\beta$ )

THP-1: línea celular de monocitos humanos

TIMP: *tissue inhibitor metalloproteinase* (inhibidor tisular de metaloproteinasa)

TLR: *Toll like receptor* (receptor de tipo *Toll*)

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral  $\alpha$

tPA: activador de plasminógeno en tejidos

TSH: hormona estimulante de la tiroides o tirotropina

UHPLC: *ultra high performance liquid chromatography* (cromatografía líquida de resolución ultra-alta)

UV: ultravioleta

VCAM-1: *vascular cell adhesion molecule 1* (molécula de adhesión a las células vasculares 1)

VLDL: *very low density lipoprotein* (lipoproteína de densidad muy baja)



## **Abreviaturas**

VEGF: *vascular endothelial growth factor* (factor de crecimiento endotelial vascular)

WHO: *World Health Organization* (Organización Mundial de la Salud)

ZFP36: *zinc finger protein 36 homolog*



# *Índice General*



<b>1. Introducción general.....</b>	<b>3</b>
1.1. Enfermedades cardiovasculares (ECV) .....	3
1.1.1. Amenazas globales .....	3
1.1.2. Perspectiva histórica .....	4
1.1.3. Enfermedad arterial coronaria y sus complicaciones .....	5
1.1.4. Estrategias de prevención .....	8
1.1.5. Tratamiento farmacológico .....	10
1.1.6. Mecanismo fisiopatológico y estructural de la ECV .....	14
1.1.6.1. <i>Inflamación</i> .....	14
1.1.6.1.1. Bases generales del proceso inflamatorio .....	14
1.1.6.1.2. Sistemas celulares involucrados en el proceso inflamatorio .....	16
1.1.6.1.2.1. Células del sistema inmune .....	17
1.1.6.1.3. Mediadores moleculares del proceso inflamatorio.....	20
1.1.6.1.3.1. Sistemas enzimáticos plasmáticos.....	20
1.1.6.1.3.2. <i>Citoquinas</i> .....	21
1.1.6.2. <i>Aterosclerosis</i> .....	23
1.1.6.2.1. Componentes estructurales y moleculares .....	24
1.1.6.2.2. Desarrollo de la aterosclerosis.....	26
1.1.6.2.2.1. Adhesión de monocitos a las células endoteliales .....	27
1.1.6.2.2.2. Angiogénesis y su papel.....	29
1.1.6.2.2.2.1. <i>Migración de las células endoteliales</i> .....	30
1.1.7. Importancia de la dieta en la prevención de ECV .....	31
1.1.7.1. <i>Alimentos funcionales y nutraceuticos</i> .....	33
1.1.7.1.1. Compuestos fenólicos .....	34
1.1.7.1.1.1. Fuentes, estructura y efectos beneficiosos generales .....	34
1.1.7.1.1.2. Clasificación.....	35
1.1.7.1.1.3. <i>Proantocianidinas o taninos condensados</i> .....	37
1.1.7.1.1.4. <i>Antocianos</i> .....	38
1.1.7.1.1.5. <i>Estilbenos</i> .....	39
1.1.7.1.1.5.1. <i>trans-Resveratrol</i> .....	41
1.1.8. Polifenoles y ECV .....	43
1.1.8.1. <i>Estudios epidemiológicos en personas</i> .....	43
1.1.8.1.1. Potenciales mecanismos de acción.....	44
1.1.8.2. <i>Antocianos y ECV</i> .....	45
1.1.8.3. <i>Proantocianidinas y ECV</i> .....	47
1.1.8.4. <i>Resveratrol y ECV</i> .....	48
1.1.8.4.1. Estudios Preclínicos .....	48
1.1.8.4.1.1. Modelos <i>in vitro</i> .....	48
1.1.8.4.1.2. Animales modelo .....	55
1.1.8.4.2. Estudios de intervención en personas.....	66
1.1.8.4.2.1. Farmacocinética y metabolismo .....	67
1.1.8.4.2.2. Ensayos clínicos aleatorios .....	71
1.1.8.4.2.2.1. <i>Voluntarios bajo medicación (en riesgo o con enfermedad establecida)</i> ..	75

1.1.8.4.2.2.2. *Sujetos no-medicados (sanos o en riesgo de enfermedad)* ..... 84

**2. Objetivos**..... 105

**3. Material y Métodos** ..... 111

3.1. Ensayos clínicos ..... 111

3.1.1. Definición ..... 111

3.1.2. Bioética ..... 112

3.1.3. Diseño, reclutamiento y seguimiento ..... 112

3.1.3.1. *Historia clínica*..... 114

3.1.3.2. *Cuestionarios dietéticos* ..... 114

3.1.3.3. *Criterios de inclusión* ..... 114

3.1.3.4. *Consentimientos informados* ..... 115

3.1.4. Productos objeto de estudio ..... 126

3.1.4.1. *Extractos de uva con y sin resveratrol* ..... 126

3.1.4.1.1. Extracción, identificación y cuantificación de compuestos fenólicos ..... 126

3.1.4.1.2. HPLC-MS de fase normal para la evaluación de procianidinas ..... 127

3.1.4.2. *Cápsulas suministradas a los pacientes* ..... 129

3.1.5. Selección de marcadores relacionados con la función cardiovascular y argumento para su elección ..... 131

3.1.5.1. *Prevención Primaria (PP)* ..... 132

3.1.5.2. *Prevención Secundaria (PS)* ..... 135

3.1.6. Procesado de muestras y determinación de variables ..... 137

3.1.6.1. *Variables serobioquímicas y hematológicas*..... 138

3.1.6.2. *Marcadores relacionados con la función cardiovascular* ..... 140

3.1.6.2.1. Marcadores inflamatorios y trombóticos ..... 140

3.1.6.2.2. Otros marcadores ..... 141

3.1.7. Análisis por cromatografía ..... 141

3.1.7.1. *Detección de resveratrol y derivados metabólicos* ..... 141

3.1.7.2. *Determinación de homocisteína total* ..... 143

3.1.8. Efecto de los productos objeto del estudio sobre la regulación de la expresión génica en células mononucleares de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria ..... 144

3.1.8.1. *Pacientes y diseño experimental* ..... 144

3.1.8.2. *Aislamiento de PBMC* ..... 144

3.1.8.3. *Análisis de poblaciones celulares por citometría de flujo* ..... 146

3.1.8.4. *ARN y proteína de PBMC* ..... 147

3.1.8.4.1. Extracción y purificación ..... 147

3.1.8.4.2. Cuantificación y evaluación de calidad de ARN ..... 148

3.1.8.4.3. Cuantificación de proteína total y medición de TNF- $\alpha$  ..... 149

3.1.8.5. *Microarrays*..... 149

3.1.8.5.1. Desarrollo y procesamiento ..... 149

3.1.8.5.2. Herramientas bioinformáticas y análisis funcional ..... 150

3.1.8.5.2.1. Identificación de funciones biológicas y rutas metabólicas ..... 151

3.1.8.6. *RT-PCR a tiempo real* ..... 152

## Índice General

3.1.8.6.1. Desarrollo y procesamiento.....	152
3.1.8.6.1.1. Ciclo umbral (Ct) .....	155
3.1.8.6.2. Cuantificación relativa de la expresión génica.....	155
3.1.8.6.2.1. Análisis por el método comparativo de los Ct .....	156
3.1.9. Análisis estadístico .....	157
<b>4. Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular.....</b>	<b>163</b>
4.1. Resumen.....	163
4.2. Introducción .....	164
4.3. Resultados y Discusión.....	166
4.3.1. Características basales demográficas y clínicas de los pacientes .....	166
4.3.2. Efectos anti-aterogénicos.....	168
4.3.2.1. Perfil lipídico del suero, niveles de ApoB y LDLox.....	168
4.3.2.2. Discusión .....	175
4.3.3. Efectos anti-inflamatorios/-fibrinolíticos .....	179
4.3.3.1. Perfil inflamatorio y fibrinolítico .....	179
4.3.3.2. Discusión .....	185
4.3.4. Seguridad y detección de metabolitos .....	188
4.3.4.1. Evaluación de la seguridad de los productos del estudio .....	188
4.3.4.2. Metabolitos derivados de compuestos fenólicos.....	193
4.3.4.3. Discusión .....	193
4.4. Limitaciones y conclusión .....	194
<b>5. Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular.....</b>	<b>199</b>
5.1. Resumen.....	199
5.2. Introducción .....	200
5.3. Resultados y Discusión.....	201
5.3.1. Características de los pacientes, y cumplimiento del ensayo .....	201
5.3.2. Efectos anti-inflamatorios/-fibrinolíticos/-aterogénicos.....	203
5.3.2.1. Perfil inflamatorio y fibrinolítico .....	203
5.3.2.2. Perfil lipídico del suero .....	209
5.3.2.3. Discusión .....	211
5.3.3. Seguridad y detección de metabolitos .....	214
5.3.3.1. Evaluación de la seguridad de los productos del estudio .....	214
5.3.3.2. Metabolitos derivados de compuestos fenólicos.....	219
5.3.3.3. Discusión .....	219
5.4. Limitaciones y conclusión .....	220
<b>6. Estudio del efecto de un extracto de uva rico en resveratrol sobre la regulación de la expresión génica en células mononucleares de</b>	

<b>pacientes hipertensos, con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria .....</b>	<b>225</b>
6.1. Resumen .....	225
6.2. Introducción.....	226
6.3. Resultados.....	229
6.3.1. Efecto en variables lipídicas, inflamatorias, fibrinolíticas y hematológicas	229
6.3.2. Efecto del consumo de GE o GE-RES en el perfil de expresión génica de las PBMC .....	237
6.3.2.1. <i>Modulación de procesos inflamatorios, mediado por la regulación de citoquinas .....</i>	<i>237</i>
6.3.2.2. <i>Validación por RT-PCR de cambios en la expresión de genes diana y miR seleccionados .....</i>	<i>244</i>
6.3.2.3. <i>Proteína TNF-<math>\alpha</math> en las PBMC.....</i>	<i>251</i>
6.3.2.4. <i>Correlaciones entre miR, genes y marcadores séricos .....</i>	<i>252</i>
6.4. Discusión .....	255
6.5. Limitaciones y conclusión .....	264
<b>7. Discusión general.....</b>	<b>269</b>
7.1. Efectos potenciales (preclínicos) frente a evidencia en humanos .....	274
7.2. Vino y salud: El papel del resveratrol .....	276
7.3. Efectos observados en marcadores de riesgo cardiovascular en pacientes de prevención primaria y secundaria. Posibles mecanismos y rutas involucrados. ....	277
7.4. La paradoja del resveratrol .....	288
7.5. Lecciones y limitaciones de los ensayos realizados. Perspectivas futuras .....	291
<b>8. Conclusiones generales .....</b>	<b>301</b>
<b>9. Bibliografía.....</b>	<b>307</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>343</b>



# **CAPÍTULO 1**

## ***Introducción General***



## **1. Introducción general**

### **1.1. Enfermedades cardiovasculares (ECV)**

#### **1.1.1. Amenazas globales**

En la actualidad, está establecido que las enfermedades no contagiosas (ENC), en particular las cardiovasculares (ECV), son las principales causas de mortalidad y discapacidad en todo el mundo, incluidos los países pobres y con ingresos medios (Gersh, *et al.*, 2010). La Organización Mundial de Salud (OMS, WHO en inglés) estima que en todo el mundo las ENC crónicas son responsables de alrededor del 70% de la mortalidad total, cuyo principal componente son las ECV. Varios factores son responsables por la carga creciente de ECV, incluyendo una esperanza media de vida más larga, el tabaquismo, la reducida actividad física y el incremento en el consumo de comidas no saludables (IOM, 2010).

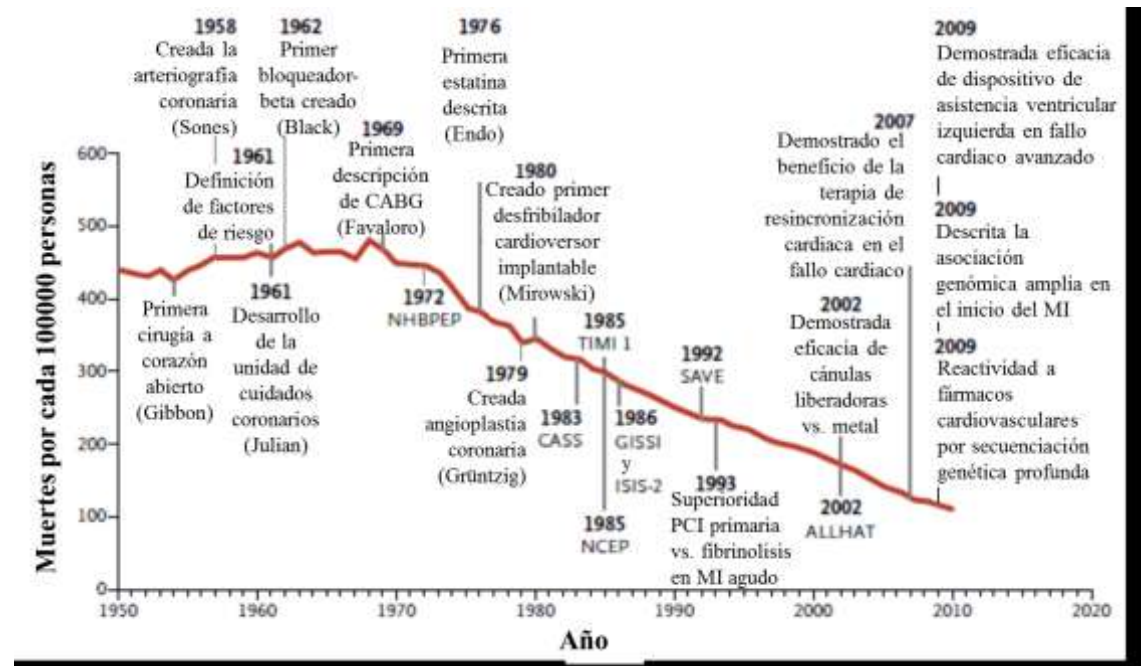
Según el Instituto Nacional de Estadística (<http://www.ine.es/>), las ECV continúan siendo la principal causa de muerte en España, a pesar de que su incidencia haya bajado casi un punto con respecto a los últimos datos conocidos hasta ahora y correspondientes al año 2009. Concretamente, las ECV han sido las responsables del 31,2% de los fallecimientos producidos en España durante 2010. Entre las ECV, las de mayor prevalencia han sido las enfermedades cerebrovasculares y la cardiopatía isquémica, las primeras, principal causa de muerte en mujeres y la segunda, en hombres. Específicamente, las patologías isquémicas del corazón (infarto, angina de pecho, etc.)

ocupan el primer lugar en número de muertes, seguidas por las cerebrovasculares. La insuficiencia cardíaca, por su parte, se sitúa como cuarta causa de muerte más común entre los españoles. En el caso particular de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia se registró el 32,39% de muertes por ECV.

### **1.1.2. Perspectiva histórica**

En los siglos XVIII y XIX el conocimiento médico se basaba en la observación clínica y en la disección anatómica. La ciencia cardiovascular emergió en la era fisiológica del final del siglo XIX y principios del XX, pero no fue hasta mediados del último que la comprensión y manejo del infarto agudo de miocardio cambió radicalmente. A mediados del siglo XX, el estudio *Framingham Heart* (Kannel, *et al.*, 1961) llevó a la identificación de la presión sanguínea y niveles de colesterol elevados como factores de riesgo y la institución de programas nacionales para educar a los clínicos y al público acerca de la importancia de controlar estos factores por el Instituto Nacional del Corazón, Pulmones, y Sangre (NHLBI), lo cual contribuyó en mejoras sustanciales de la tasa de muertes en este país (NHLBI, 2011) (**Figura 1.1**). A través de la identificación de estos factores de riesgo coronarios y otros que les siguieron, se levantó el velo que enmascaraba los mecanismos subyacentes en la angina e infarto miocárdico, y se introdujo el concepto de que la enfermedad arterial coronaria (EAC) y sus complicaciones podían ser evitadas. Ensayos clínicos multicéntricos cada vez mayores demostraron, consecuentemente, que la prevención primaria y la secundaria eran posibles cuando se daban pasos para bajar la presión sanguínea y el colesterol total en el suero (Nabel & Braunwald, 2012).

## Introducción General



**Figura 1.1.** Descenso en el número de muertes causadas por enfermedad cardiovascular en relación a los avances científicos. La cronología muestra la disminución constante en las muertes por EVC a partir de finales del siglo 20 hasta la actualidad, juntamente con los mayores avances en la ciencia cardiovascular y en la medicina. ALLHAT, ensayo clínico del tratamiento antihipertensivo y disminución de lípidos para prevenir ataques de corazón; CABG, *bypass* coronario; CASS, estudio de la cirugía coronaria arterial; GISSI, ensayo clínico del grupo italiano para el estudio de la estreptoquinasa en el infarto del miocardio; ISIS-2, segundo estudio internacional de la supervivencia al infarto; MI, infarto miocárdico; NCEP, programa educativo nacional del colesterol; NHBPEP, programa educativo nacional de la presión sanguínea elevada; PCI, Intervención coronaria percutánea; SAVE ensayo clínico de la supervivencia y agrandamiento ventricular; TIMI 1, Trombosis en el infarto miocárdico 1. Adaptado (Nabel & Braunwald, 2012).

### 1.1.3. Enfermedad arterial coronaria y sus complicaciones

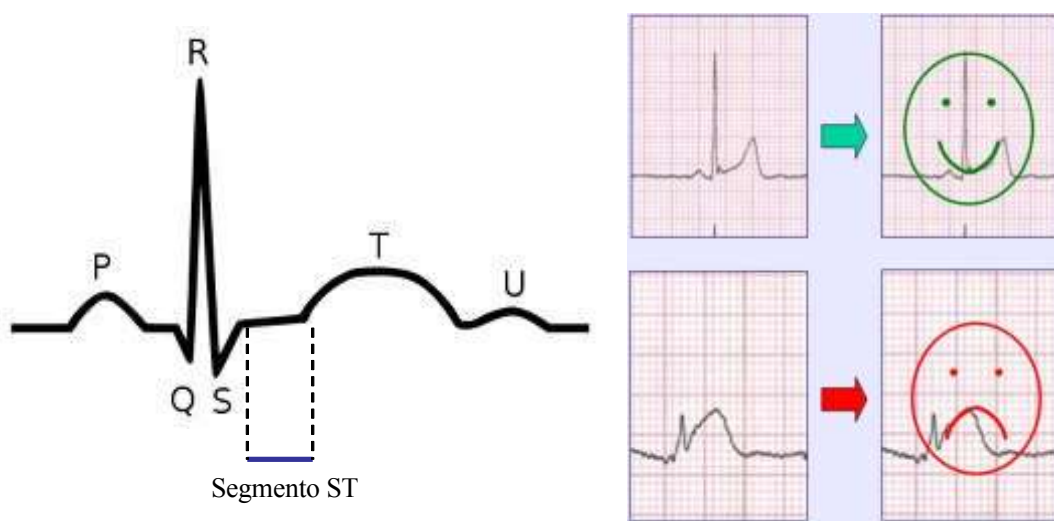
La EAC es el tipo más común de ECV. La EAC y sus complicaciones, tales como la arritmia, la angina de pecho y el ataque cardíaco (o infarto de miocardio), son las principales causas de muerte y morbilidad en gran parte del mundo (Shah, 2006). Como se verá en apartados posteriores, la aterosclerosis coronaria es un proceso lento de formación de colágeno, acumulación de lípidos y células inflamatorias, que provocan el estrechamiento (estenosis) de las arterias coronarias. Este proceso empieza en las primeras décadas de la vida, pero no presenta síntomas hasta que la estenosis de la arteria coronaria se hace tan grave que causa un desequilibrio entre el aporte de oxígeno

al miocardio y sus necesidades. En este caso se produce una isquemia miocárdica (angina de pecho estable) o una oclusión súbita por trombosis de la arteria, lo que provoca una falta de oxigenación del miocardio que da lugar al síndrome coronario agudo (SCA), donde se incluyen la angina inestable y el infarto agudo de miocardio (Alvarez-Sala Walther, *et al.*, 2009).

La angina de pecho, generalmente un síntoma de EAC, es el dolor que se manifiesta cuando una arteria coronaria enferma no puede suministrar suficiente sangre a una parte del músculo cardíaco para satisfacer su necesidad de oxígeno. El aporte deficiente de sangre rica en oxígeno al corazón se denomina «isquemia». A diferencia de un ataque al corazón, el músculo cardíaco no sufre un daño permanente y el dolor generalmente desaparece con el reposo (Alvarez-Sala Walther, *et al.*, 2009). La angina de pecho inestable suele ser signo de muy alto riesgo de infarto agudo de miocardio o muerte súbita. La angina inestable se desencadena igual que el infarto, pero en este caso no existe una oclusión completa de la arteria coronaria por el trombo y no se llega a producir muerte de células cardíacas. Los síntomas son iguales a los del infarto, aunque generalmente de menor duración e intensidad. Esta angina debe ser tratada como una emergencia, ya que hay un elevado riesgo de producirse un infarto, una arritmia grave o muerte súbita (Alvarez-Sala Walther, *et al.*, 2009). El infarto agudo de miocardio es una enfermedad grave que ocurre como consecuencia de la obstrucción de una arteria coronaria por un trombo. La consecuencia final de la obstrucción de la arteria es la muerte (necrosis) del territorio que irriga la arteria obstruida. La necrosis de la zona que se queda sin riego sanguíneo es progresiva. El daño se puede interrumpir si el miocardio vuelve a recibir sangre por medio de procedimientos que desatascan la arteria bloqueada, pero una vez muere la porción de músculo cardíaco, es imposible recuperar su función. Los infartos de miocardio o ataques cardíacos se dividen en dos tipos según

## Introducción General

su gravedad. El tipo más grave de ataque cardíaco se llama “infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST” o IAMEST. En un IAMEST, la arteria coronaria está completamente obstruida por un coágulo sanguíneo, de modo que todo el músculo cardíaco que normalmente recibe sangre de la arteria afectada comienza a morir. Se puede identificar un IAMEST debido a las alteraciones características que se observan en un electrocardiograma (ECG). Una de esas alteraciones es la elevación del segmento ST (**Figura 1.2**), la cual indica que se ha lesionado una gran cantidad de músculo cardíaco. En un infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST o IAMSEST, la arteria coronaria solo está parcialmente obstruida, de modo que solo puede lesionarse una parte del músculo cardíaco regado por la arteria afectada. Un IAMSEST no produce elevación del segmento ST en el ECG. Por esta razón, a veces es difícil distinguir un ataque cardíaco o un episodio de angina (Alvarez-Sala Walther, *et al.*, 2009).



**Figura 1.2.** Izquierda: Representación de un electrocardiograma normal con el segmento ST. Derecha-arriba: Segmento ST normal. Derecha-abajo: Elevación del segmento ST.

Para un correcto diagnóstico de la EAC se pueden llevar a cabo distintos estudios tales como ECG, pruebas de esfuerzo, ecocardiografías, angiografías coronarias, etc. En particular, durante una ecocardiografía se mide la fracción de eyección ventricular izquierda o FEVI del corazón, un marcador de riesgo importante (Galema, *et al.*, 2008).

Durante un latido cardíaco, por muy fuerte que sea la contracción, el corazón nunca eyecta toda la sangre de los ventrículos. La FEVI es el porcentaje de sangre expulsada del ventrículo izquierdo con cada latido, siendo que en un corazón sano suele estar entre un 55 y 70 %; valores por debajo de 55% suelen indicar un daño en el músculo cardíaco posiblemente debido a un infarto de miocardio previo (<http://www.heart.org/>).

#### **1.1.4. Estrategias de prevención**

El concepto de *continuum* cardiovascular considera la progresión desde la aparición de los factores de riesgo hasta la enfermedad vascular terminal y la prevención se extiende a través de todos estos estadios (Dzau, *et al.*, 2006). Este concepto se basa en la explicación según la cual eventos cardiovasculares como insuficiencias cardíacas e infartos de miocardio son en realidad manifestaciones tardías de complicaciones en una cadena de eventos que comienzan con factores de riesgo que pueden progresar durante décadas. Los determinantes sociales de las ECV, como la organización social, acontecimientos vitales precoces, jerarquía social, desempleo, entorno laboral, transporte, apoyo y cohesión social, alimentación, pobreza y exclusión social y un bajo nivel de alfabetización influyen en la prevención primordial, primaria y secundaria (Marmot & Wilkinson, 1999) (**Figura 1.3**).

La llamada “*prevención primordial*” se centra en la distribución de la carga de factores de riesgo en la población utilizando estrategias para incrementar la concienciación de la población y el acceso, a través de la formación/educación, relativo al tabaquismo y al abandono del hábito, la modulación de la alimentación (consumo reducido de grasas y consumo abundante de fruta y verduras), y un aumento de la actividad física (WHO, 2007).



## Introducción General

La “*prevención primaria*” se dirige al control de los factores de riesgo de ECV, como el tabaquismo, hipertensión arterial, concentración elevada de colesterol LDL, concentración de HDL, síndrome metabólico y diabetes, de modo que se evite o difiera el inicio de una ECV manifiesta, utilizando estrategias de control tanto basadas en la población como clínicas. Las poblaciones de alto riesgo específicas son las de fumadores o aquellas con antecedentes familiares de ECV, un estilo de vida sedentario, obesidad generalizada o central, y los individuos con hipertensión, hipercolesterolemia, otras dislipidemias, *diabetes mellitus* o síndrome metabólico (WHO, 2009). Para un examen de cribado se necesitan guías basadas en evidencias científicas convincentes que demuestren que las intervenciones prolongan la supervivencia global, mejoran la calidad de vida y reducen la incidencia de acontecimientos cardiovasculares agudos. En este contexto, las guías publicadas por la Sociedad Europea de Cardiología (Perk, *et al.*, 2012) y por la Asociación Americana del Corazón (Pearson, *et al.*, 2002) son de gran utilidad.



**Figura 1.3.** Pirámide de prevención cardiovascular. El mayor beneficio y reducción de las ECV se obtiene con medidas de prevención primordial. También son importantes las estrategias de prevención primaria basadas en la clínica, que incluyen el control de las cifras de presión arterial, la concentración plasmática de lípidos y la diabetes. El manejo de los acontecimientos ECV agudos y a largo plazo con tratamientos de prevención secundaria y terciaria también contribuye a la disminución de la mortalidad por estas enfermedades. Adaptado (Gupta & Deedwania, 2011).

La “*prevención secundaria*” de riesgo cardiovascular engloba el tratamiento tanto agudo como a largo plazo de la enfermedad incluyendo los cambios del estilo de vida, el control de los factores de riesgo y estrategias farmacológicas aplicadas a pacientes con ECV establecida (EAC, ictus y otras). En este sentido, son útiles las guías publicadas por la Sociedad Europea de Cardiología (Perk, *et al.*, 2012) y por la Asociación Americana del Corazón (Smith, *et al.*, 2011). Las intervenciones incluyen el control del peso, presión arterial, alteraciones lipídicas y glucemia, el abandono del tabaquismo, el aumento de la actividad física, y el tratamiento farmacológico.

Los objetivos de la “*prevención terciaria*” incluyen el evitar un mayor deterioro físico del paciente y maximizar la calidad de vida. Existen evidencias que apuntan a que la rehabilitación cardíaca basada en el ejercicio es eficaz en la reducción de muertes por enfermedades del corazón; estando indicada en pacientes que han sufrido un infarto de miocardio, sufren de angina inestable, o que han sufrido revascularización coronaria (Fahey & Schroeder, 2004)

### **1.1.5. Tratamiento farmacológico**

Diferentes tipos de medicamentos se pueden emplear en la prevención y/o tratamiento de las ECV, y en particular de las EAC, tales como nitratos, antiarrítmicos, antiplaquetarios, anticoagulantes, betabloqueantes, bloqueantes cálcicos, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) y reductores del colesterol, entre otros (Smith, *et al.*, 2011).

A pesar de que los nitratos son útiles como agentes antianginosos en el tratamiento de la EAC, estos fármacos no han sido sujetos a evaluación en ensayos prospectivos para determinar sus efectos en el riesgo de eventos graves (infarto de

## **Introducción General**

miocardio, muerte) en pacientes con EAC estable. Su efecto se debe a la vasodilatación, sobre todo por la dilatación de las venas, que resulta en una reducción de la dimensión compartimental y del esfuerzo cardíaco (Carbajal & Deedwania, 2011).

Los antiarrítmicos se utilizan para tratar las alteraciones del ritmo cardíaco denominadas arritmias y para aliviar los síntomas relacionados con ellas, actuando de diferentes maneras para retardar los impulsos eléctricos del corazón a fin de normalizar su ritmo. Se dividen en cuatro clases estándar (I-IV) y una más donde se incluyen agentes con características mixtas como la digoxina (Hondeghe, 2000).

Los pacientes con EAC y aquellos con fibrilación auricular requieren con frecuencia tratamiento antiplaquetario o de anticoagulación para reducir el riesgo de eventos cardiovasculares y cerebrales. Los anticoagulantes reducen el riesgo de sufrir un ataque cardíaco, un accidente cerebrovascular y obstrucciones en las arterias y venas, impidiendo que se formen coágulos sanguíneos o que éstos aumenten de tamaño. Sin embargo, no pueden disolver los coágulos que ya se hayan formado (Mischke, *et al.*, 2012). El tratamiento antiagregante plaquetario se utiliza extensamente con beneficios comprobados para la prevención de complicaciones cardíacas isquémicas en pacientes con EAC establecida y antecedentes de síndrome coronario agudo. Las limitaciones de la terapia convencional antiplaquetaria con aspirina, clopidogrel, o prasugrel, así como el hecho de que las tasas de eventos isquémicos recurrentes siguen altas con el uso de estos agentes, subrayan la necesidad de buscar agentes alternativos que puedan reducir aún más las tasas de eventos a la vez que limitan el riesgo de sangrado (Packard, *et al.*, 2012).

Los betabloqueantes son un grupo multiforme de drogas con múltiples aplicaciones en el tratamiento de pacientes con enfermedad cardiovascular. Sus reacciones adversas son múltiples y se refieren principalmente al bloqueo de los

receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Se utilizan para tratar todas las formas de la enfermedad coronaria, pero especialmente en el infarto agudo de miocardio y SCA. La administración a pacientes con enfermedad arterial coronaria resultó en el aumento de la supervivencia y mejora la calidad de vida de estos pacientes y por lo tanto son un grupo clave de drogas para su gestión. Sin embargo, debido a efectos secundarios, se deben de usar con precaución, especialmente en pacientes hemodinámicamente inestables (Boudonas, 2010).

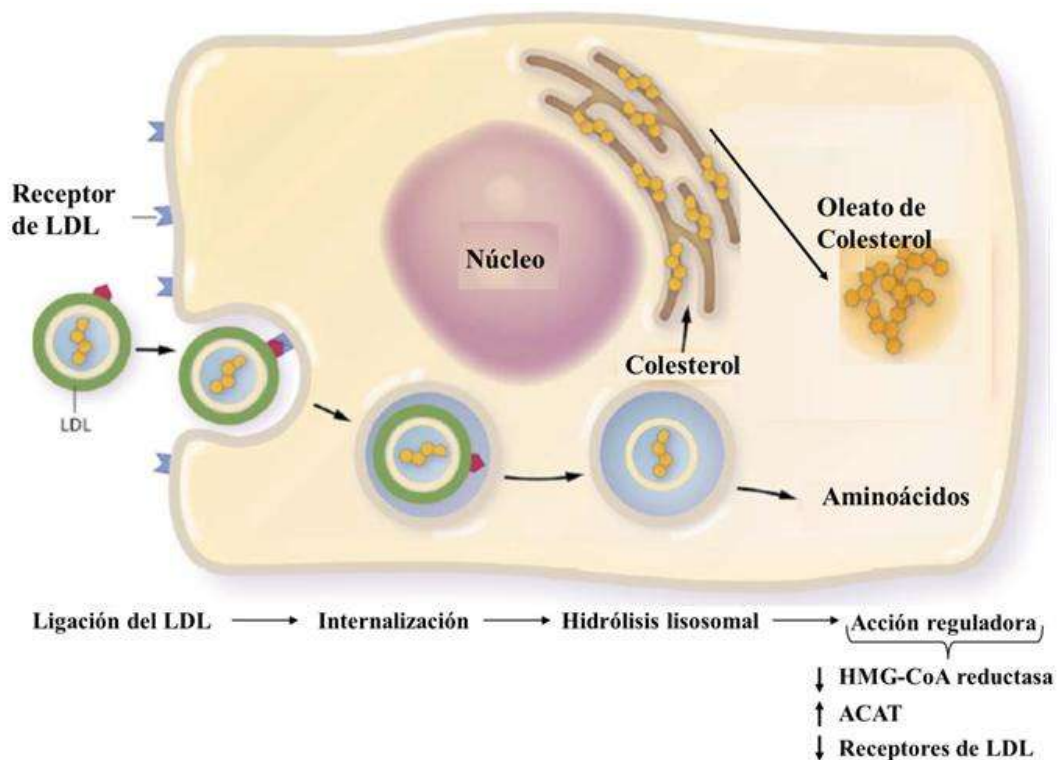
Los bloqueantes de los canales de calcio se utilizan para controlar la hipertensión, angina de pecho y la arritmia. Estos medicamentos reducen el paso del calcio al músculo cardíaco y a las paredes de los vasos sanguíneos, resultando en el relajamiento de los mismos. Los vasos relajados permiten que la sangre fluya más fácilmente, reduciéndose así la presión arterial (Inzitari, *et al.*, 2005).

Los inhibidores de la ECA se utilizan para tratar la insuficiencia cardiaca congestiva y la hipertensión. También se administran tras un ataque cardíaco, porque algunos estudios demuestran que estos medicamentos pueden limitar el daño sufrido por el músculo cardíaco. Estos medicamentos bloquean la acción de la ECA (la cual incrementa la vasoconstricción), llevando a una reducción de la presión arterial y a que el corazón reciba más sangre rica en oxígeno. También reducen la cantidad de sal y líquido en el organismo, lo cual ayuda a reducir la presión arterial (Ferrari & Fox, 2009).

Los reductores del colesterol se emplean para la disminución de niveles elevados de colesterol total o de colesterol LDL que no pueden reducirse con un plan de dieta y ejercicio. Existen cinco clases de reductores del colesterol, siendo que cada una de ellas actúa de manera diferente. Las estatinas (inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa), descubiertas por Akira Endo (Endo, 1992), bajan

## Introducción General

selectivamente los niveles de colesterol LDL en plasma a través de un mecanismo regulación por retro-alimentación (*feedback*) del receptor de las LDL (**Figura 1.4**), reduciendo el riesgo del infarto de miocardio. No obstante, diversos estudios sugieren que las estatinas pueden retrasar la progresión de la enfermedad a un ritmo y a una extensión que no pueden ser atribuidas solamente a una disminución de LDL. Además, se ha observado que las estatinas reducen, reproduciblemente, los niveles circulantes de proteína C reactiva, un biomarcador inflamatorio asociado con síndromes coronarios agudos (Ridker, *et al.*, 2005).



**Figura 1.4.** Pasos secuenciales en la ruta del receptor del colesterol LDL. Tras unirse al receptor de LDL, el colesterol LDL sufre la internalización mediada por el receptor, seguida de la degradación por las hidrolasas lisosomales, y de la generación de colesterol derivado de las LDL, el cual regula el contenido celular de colesterol suprimiendo la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, activando la enzima de esterificación del colesterol (acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT)), e inhibiendo la transcripción del gen del receptor de las LDL. Adaptado (Nabel & Braunwald, 2012).

La reducción de la inflamación puede así ser el mecanismo clave a través del cual las estatinas alteran la biología de las placas y retrasan la progresión de la enfermedad.

Sin embargo, a pesar de que las estatinas son actualmente los fármacos más populares y globalmente prescritos para ayudar a tratar las ECV, las evidencias indican que la terapia con estatinas no elimina en su totalidad el riesgo cardiovascular (Ridker, *et al.*, 2009). De este modo, es necesario continuar la investigación dentro de la inflamación y de las interacciones celulares para ayudar a desarrollar terapias complementarias, aún más eficaces.

En los casos más graves, a menudo se administran combinaciones de estos medicamentos y otros, y muchas veces son precisos procedimientos quirúrgicos que despejan las arterias obstruidas, como la angioplastia, y la cirugía de revascularización o derivación (*bypass*).

## **1.1.6. Mecanismo fisiopatológico y estructural de la ECV**

### **1.1.6.1. Inflamación**

#### **1.1.6.1.1. Bases generales del proceso inflamatorio**

La inflamación arterial es el mecanismo fisiopatológico y estructural de la ECV. La disminución del diámetro arterial, la mayor facilidad para la ruptura de las placas inflamatorias asociada a inflamación vascular, y el estado protrombótico que acompañan a la lesión arterial, facilitan el establecimiento de isquemia aguda o crónica de cualquier área vascular del organismo (Chew, *et al.*, 1999).

El proceso inflamatorio es una respuesta inespecífica a una gran variedad de lesiones tisulares cuya finalidad es la eliminación del agente causante, eliminación del tejido muerto y el re-emplazamiento por tejido normal o la cicatrización del mismo

## **Introducción General**

(Cachofeiro-Ramos, *et al.*, 2004, Iannitti & Palmieri, 2011); independientemente de cuál sea la causa generadora (infección microbiana, respuesta alérgica, quemadura, etc.) la respuesta es análoga. Existe un tipo de inflamación aguda y otra crónica; la primera es un proceso de corta duración, limitado y que se inicia rápidamente frente a estímulos químicos, térmicos o infecciosos, caracterizándose por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de células inmunes a la zona inflamada facilitando la acción de las defensas del organismo y la recuperación de la homeostasis (Cachofeiro-Ramos, *et al.*, 2004). Si esta inflamación no se disipa tiende a tornarse crónica, de larga duración, pudiendo generar un exceso de especies reactivas producidas por las células inflamatorias que a su vez pueden acabar provocando un daño irreparable en ácidos nucleicos, proteínas y/o lípidos. Esto genera, a su vez, la alteración de células y tejidos produciendo más inflamación mediante la producción de moléculas de señalización, expresión de genes específicos, etc. Las moléculas inflamatorias producidas por las células inmunes y células inflamadas generan un daño oxidativo que se extiende hacia tejidos próximos provocando una reacción inflamatoria en cascada. Como consecuencia, la inflamación crónica predispone al organismo a la progresión de enfermedades que se caracterizan por un proceso de infiltración de células inflamatorias, excesiva producción de moléculas inflamatorias, alteración de la señalización celular y pérdida de la función protectora (Kontogianni, *et al.*, 2006, Scrivo, *et al.*, 2011). Son varios los estudios que relacionan el envejecimiento y las enfermedades asociadas con la alteración del funcionamiento del sistema inmune y de la respuesta inflamatoria (Iannitti & Palmieri, 2011). Entre las patologías crónicas más frecuentes asociadas al envejecimiento y al cambio del proceso inflamatorio normal se incluyen aterosclerosis, obesidad, diabetes, enfermedades neurológicas y enfermedades

inflamatorias del tracto intestinal que pueden, en última instancia, llevar al cáncer (Andersson, *et al.*, 2010).

#### **1.1.6.1.2. Sistemas celulares involucrados en el proceso inflamatorio**

Los principales tejidos involucrados en la reacción inflamatoria son el endotelio vascular el tejido conectivo y la sangre.

El endotelio vascular está constituido por una monocapa de células endoteliales que cubre la superficie interna de los vasos sanguíneos y separa la sangre de los tejidos. Las células endoteliales se encargan del mantenimiento de la homeostasis de los vasos, liberan moléculas que regulan la respuesta inmune y expresan moléculas de adhesión en su superficie para el reclutamiento de células al intersticio celular (Andersson, *et al.*, 2010). Además, responden a las citoquinas producidas por varias células inmunes y por células vasculares, mediando en la respuesta inflamatoria (Sprague & Khalil, 2009). La respuesta de la célula endotelial a las diferentes alteraciones del entorno requiere un alto grado de control y regulación para evitar que una respuesta fisiológica se convierta en patológica. (Libby, 2006).

Las células del tejido conectivo (fibroblastos, macrófagos, etc.) juntamente con las células musculares lisas (CML) se encuentran embebidas en una compleja matriz extracelular (MEC) rica en fibras de elastina (Enzerink & Vaheri, 2011, Libby, *et al.*, 2011). En los tejidos inflamados, los fibroblastos secretan quimioquinas y citoquinas, regulan la infiltración de leucocitos y forman una barrera inflamatoria que alerta a las células y tejidos vecinos de estímulos peligrosos (Enzerink & Vaheri, 2011). Las CML, que se encuentran localizadas en la túnica media de las arterias, están altamente especializadas y regulan la contracción, el diámetro del tono vascular, la presión sanguínea y la distribución del flujo sanguíneo. Además, intervienen en los procesos de



## **Introducción General**

regeneración de la MEC, sintetizando proteínas y proteasas, y en la respuesta inflamatoria mediante la producción de citoquinas pro-inflamatorias y expresando marcadores inflamatorios (Libby, *et al.*, 2011).

La sangre aporta varias células que participan en la respuesta inflamatoria (células del sistema inmune), así como el plasma que aporta numerosas proteínas y moléculas activadoras y/o reguladoras del proceso.

### **1.1.6.1.2.1. Células del sistema inmune**

El sistema inmune está constituido por un grupo de células relacionadas entre sí que integran funciones esenciales para la salud. Estas células actúan de una manera coordinada con la finalidad de eliminar el estímulo o agente que causa la inflamación y recuperar la homeostasis en el tejido (Andersson, *et al.*, 2010).

Las plaquetas son células del sistema inmune que, además de prevenir el sangrado excesivo, desempeñan un papel importante en la topografía y el mantenimiento de la integridad del endotelio, en parte por la liberación de citoquinas proangiogénicas y factores de crecimiento que modulan la migración de leucocitos hacia el tejido inflamado. Alteraciones en las interacciones plaquetas-endotelio han sido reconocidas como un importante mecanismo patogénico en el desarrollo de la aterosclerosis (Kaplan & Jackson, 2011).

Los leucocitos son las principales células inmunes involucradas en la respuesta inflamatoria y se clasifican en neutrófilos (40%-75%), linfocitos (20%-50%), monocitos (2%-10%), eosinófilos (1%-6%) y basófilos (<1%). Los monocitos son fagocitos mononucleares que se encuentran en el bazo o permanecen en circulación algunos días para acabar migrando por el endotelio hacia el tejido conectivo. Durante el proceso inflamatorio, los monocitos se dirigen a la zona inflamada gracias a la liberación de

citoquinas, interaccionan con las células endoteliales por unión a moléculas de adhesión, y se introducen en el tejido diferenciándose a macrófagos debido a la presencia de factores de crecimiento, citoquinas pro-inflamatorias y/o productos microbianos. Además de la inflamación, los monocitos están también implicados en procesos como la angiogénesis y la remodelación de tejidos dañados (Delavary, *et al.*, 2011, Hristov & Weber, 2011). Los macrófagos mononucleares proceden de los monocitos y son las células dominantes en la inflamación crónica, ya que tienen un tiempo de vida que va desde meses hasta años. Una vez que los monocitos salen de los capilares sanguíneos y se localizan en los tejidos se transforman en macrófagos, los cuales juegan un papel central en los procesos ateroscleróticos que conducen a la formación de células espumosas (Stone, *et al.*, 2010).

El papel de los linfocitos es de gran importancia en el proceso inflamatorio. Se ha sugerido que la respuesta de los linfocitos afecta a la aterosclerosis, no sólo en la producción de citoquinas pro-inflamatorias sino también en la regulación de la función de los linfocitos B y producción de anticuerpos (Libby, *et al.*, 2011).

Dentro de los granulocitos se incluyen los neutrófilos, eosinófilos y los basófilos. Los neutrófilos son los más abundantes e intervienen en la respuesta inflamatoria secretando citoquinas y fagocitando los agentes infecciosos que producen la inflamación. Los eosinófilos y basófilos son células menos abundantes e intervienen en la respuesta inflamatoria inducida por parásitos y/o procesos alérgicos (Stone, *et al.*, 2010).

Como se verá en los apartados siguientes, en todas las etapas del proceso aterosclerótico, desde su inicio hasta su punto final, intervienen las células inmunes y particularmente las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC) como los linfocitos y los monocitos (Libby, 2006). Estas células responden a niveles cambiantes

## **Introducción General**

de lípidos en el plasma regulando una red de genes, incluyendo aquellos involucrados en el metabolismo de ácidos grasos (Ma, *et al.*, 2007), y se ha subrayado su importancia en la promoción de un estado protrombótico (Afshar-Kharghan & Thiagarajan, 2006). Además, se ha demostrado una relación entre marcadores inflamatorios y estrés oxidativo (Kotur-Stevuljevic, *et al.*, 2007). En el proceso global, algunos receptores nucleares responden al estrés oxidativo y a mecanismos inflamatorios, regulando la expresión de genes involucrados en inflamación y metabolismo lipídico (Puddu, *et al.*, 2005, Pascual & Glass, 2006). Todos estos datos sugieren que el trabajo de investigación integrado es necesario para entender mejor y así poder explicar la base molecular de las ECV, la cual depende probablemente de interacciones entre las diferentes rutas biológicas involucradas y la inflamación (Visvikis-Siest, *et al.*, 2007). A pesar de existir cierto debate (Blankenberg & Yusuf, 2006), los niveles plasmáticos de algunas moléculas consideradas marcadores inflamatorios, como las moléculas de adhesión, citoquinas y otros, como la proteína C-reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), han sido bien correlacionados con el riesgo cardiovascular en muchos estudios epidemiológicos (Blake & Ridker, 2002, Ferri, *et al.*, 2006, Ridker, *et al.*, 2008). La gran mayoría de la investigación que trabaja para identificar biomarcadores se centra en moléculas solubles en plasma o suero. Sin embargo, las concentraciones de plasma/suero representan un conjunto de moléculas provenientes de diferentes tejidos y describen la fisiopatología global de la situación. De hecho, los niveles de plasma/suero de las moléculas no reflejan su producción por tejidos específicos (Jason, *et al.*, 2001). En este contexto, las respuestas en la expresión génica de las PBMC circulantes pueden potencialmente proporcionar un aviso precoz del inicio de enfermedades, lo que justifica su investigación.

### **1.1.6.1.3. Mediadores moleculares del proceso inflamatorio**

La inflamación está bajo el control de sistemas enzimáticos plasmáticos y de moléculas mediadoras, producidas y liberadas por las células, que participan en el proceso inflamatorio, como es el caso de las citoquinas.

#### **1.1.6.1.3.1 Sistemas enzimáticos plasmáticos**

Una gran variedad de fenómenos en la respuesta inflamatoria están mediados por proteínas plasmáticas que pertenecen a varios sistemas interrelacionados entre sí, como el sistema de coagulación (que incluye los factores de coagulación, como el fibrinógeno y la protrombina), el sistema de las quininas y el sistema del complemento. Estas moléculas tienen un papel mediador en la inflamación induciendo vasodilatación, quimiotaxis, aumentando la permeabilidad vascular, activando receptores y moléculas involucradas en la inflamación, entre otros (Moreau, *et al.*, 2005).

El inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) o serpina E1 es una proteína que pertenece a la familia de los inhibidores de las serín proteasas. Interviene en procesos de coagulación/fibrinólisis (evitando la acumulación de coágulos de fibrina), en inflamación y en la reparación de tejidos. Está producida principalmente por células endoteliales, CML, adipocitos, fibroblastos y monocitos/macrófagos. El PAI-1 juega un papel destacado en los procesos inflamatorios observándose niveles elevados de esta molécula en pacientes con aterosclerosis o septicemia. Además, es un potente regulador de la migración celular y la angiogénesis e interviene en diversos procesos inmunes (Czekay, *et al.*, 2011).

## **Introducción General**

### **1.1.6.1.3.2. Citoquinas**

Son un grupo de proteínas de bajo peso molecular producidas por las células inmunitarias, endoteliales y fibroblásticas que controlan numerosos procesos como la respuesta inflamatoria local y sistémica, la reparación tisular, la defensa frente a la infección y la proliferación de los linfocitos T y B. Las citoquinas se pueden clasificar como proinflamatorias o anti-inflamatorias y engloban varias subfamilias como las interleuquinas (IL), interferones (IFN), factores de necrosis tumoral (TNF), factores de crecimiento, factores estimulantes de colonia y quimioquinas (Sprague & Khalil, 2009).

Los macrófagos son la principal fuente de citoquinas proinflamatorias, las cuales están implicadas en la activación y mantenimiento de los procesos inflamatorios, aumentando la reacción inflamatoria, estimulando la secreción de otras citoquinas pro-inflamatorias, favoreciendo la secreción de quimioquinas y/o aumentando la expresión de moléculas de adhesión (Andersson, *et al.*, 2010). La IL-1, una importante citoquina pro-inflamatoria multifuncional, presenta dos isoformas (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) con funciones biológicas indistinguibles (Bujak & Frangogiannis, 2009). El TNF- $\alpha$ , otra citoquina pro-inflamatoria con un papel destacado, es producido principalmente por macrófagos y monocitos y en menor medida por linfocitos, neutrófilos, células endoteliales o fibroblastos (Apostolaki, *et al.*, 2010). Otras citoquinas pro-inflamatorias importantes son IL-6, la IL-8 y MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos o CCL-2). La primera induce fiebre y estimula los linfocitos T (aunque puede comportarse como anti-inflamatoria disminuyendo la expresión de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  (Gosslau, *et al.*, 2011). La IL-8 está implicada en la quimiotaxis, atrayendo a los leucocitos hacia los tejidos inflamados y la MCP-1 regula la migración e infiltración de monocitos y macrófagos (Hansson & Hermansson, 2011). La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la

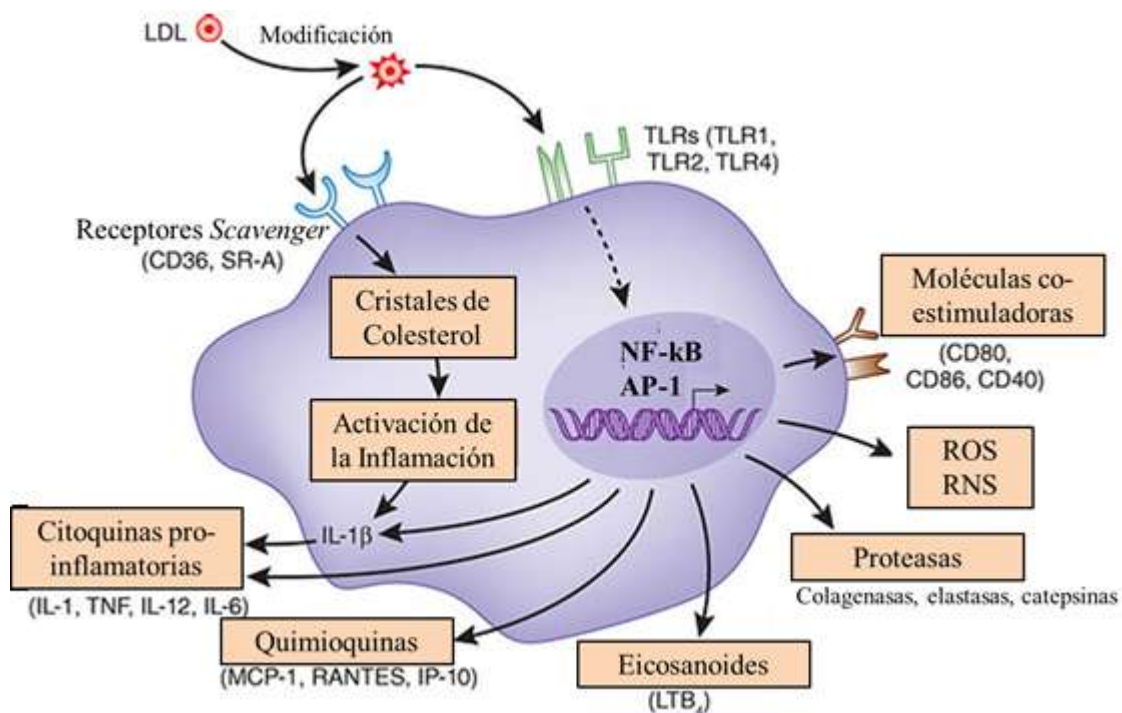
proteína de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) desempeñan un papel sustancial en la regulación de la inflamación, estando implicadas en la migración de los leucocitos a los tejidos inflamados (Libby, *et al.*, 2011). Las interleuquinas 12, 15 y 18 y el IFN- $\beta$  son importantes mediadores en el proceso inflamatorio, regulando la actividad de las células del sistema inmune, disminuyendo o estimulando la secreción de citoquinas pro-inflamatorias, induciendo fiebre, etc. (Andersson, *et al.*, 2010).

En la respuesta inmunológica intervienen, también, otro conjunto de citoquinas, las anti-inflamatorias, que incluyen, entre otras, la IL-4, IL-10, IL-13, IFN- $\alpha$  y el factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), las cuales están implicadas en la disminución de la respuesta inflamatoria. Con todo, resulta complicado establecer una división clara entre citoquinas pro- y anti-inflamatorias, ya que la respuesta inflamatoria está determinada no solo por el balance entre ambas, sino también por factores diversos como la sincronización en la liberación, las condiciones en las que se liberan, la presencia de factores sinérgicos o competitivos, la densidad de receptores y la respuesta del tejido a cada citoquina (Hansson & Hermansson, 2011).

Muchas de las moléculas mediadoras de la respuesta inflamatoria convergen en la regulación de la actividad del factor nuclear *kappa* B (NF- $\kappa$ B) (**Figura 1.5**). La activación y migración al núcleo celular de este factor de transcripción es un proceso clave en la regulación de la transcripción de genes relacionados con la inflamación entre los cuales se incluyen las quimioquinas, citoquinas pro-inflamatorias, moléculas de adhesión y factores de crecimiento (Bujak & Frangogiannis, 2009, Andersson, *et al.*, 2010). A través de la modulación de la expresión génica, el NF- $\kappa$ B regula a su vez procesos celulares básicos como la activación y la apoptosis celular, y la producción de diversos mediadores inflamatorios. Además del NF- $\kappa$ B, la proteína activadora 1 (AP-1), otro importante factor de transcripción de genes relacionados con inflamación y la

## Introducción General

proteína CREB (*cAMP response element binding protein*), el principal co-activador de ambos, juegan un papel esencial en la regulación del proceso inflamatorio (Gossiau, *et al.*, 2011).



**Figura 1.5.** Red de mediadores moleculares asociados con el proceso de inflamación. La recepción del estímulo pone en marcha una cascada de reacciones que conducen a la activación del NF- $\kappa$ B y su consecuente migración hacia el núcleo, en el cual, este y otros factores de transcripción, como el AP-1, que también se ven activados, influyen en la expresión de varios genes involucrados en el proceso inmune. Modificado (Hansson & Hermansson, 2011).

### 1.1.6.2. Aterosclerosis

La aterosclerosis es un proceso caracterizado por el depósito e infiltración de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias generando placas de ateroma, siendo una forma común de arteriosclerosis (del griego *arterio*, arteria y *sclerosis*, cicatriz, rigidez), que se caracteriza por el endurecimiento de las arterias (Libby, *et al.*, 2011). La aterosclerosis y patologías asociadas están entre las ECV más prevalentes en la actualidad y una de las primeras causas de muerte tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo (Haraoui, *et al.*, 2012). La aterosclerosis es la base

etiológica de diversas ECV, siendo las más comunes las cardiopatías isquémicas e infartos, accidentes vasculocerebrales (ictus o trombosis cerebral) y EAC (Hansson & Hermansson, 2011). Tradicionalmente, el sexo, la edad, la hipertensión, la hipercolesterolemia, la dislipidemia, la diabetes, la obesidad, el tabaquismo, el sedentarismo y una dieta rica en grasas, sal y carbohidratos se han considerado como factores de riesgo de las ECV. Muchos estudios han demostrado que la inflamación vascular es una etapa temprana del desarrollo de la aterosclerosis (Haraoui, *et al.*, 2012). La prevención de las etapas iniciales de los procesos ateroscleróticos y, en general, el tratamiento de la inflamación sistémica ha despertado un gran interés como terapia para disminuir el riesgo cardiovascular (Haraoui, *et al.*, 2012).

#### **1.1.6.2.1. Componentes estructurales y moleculares**

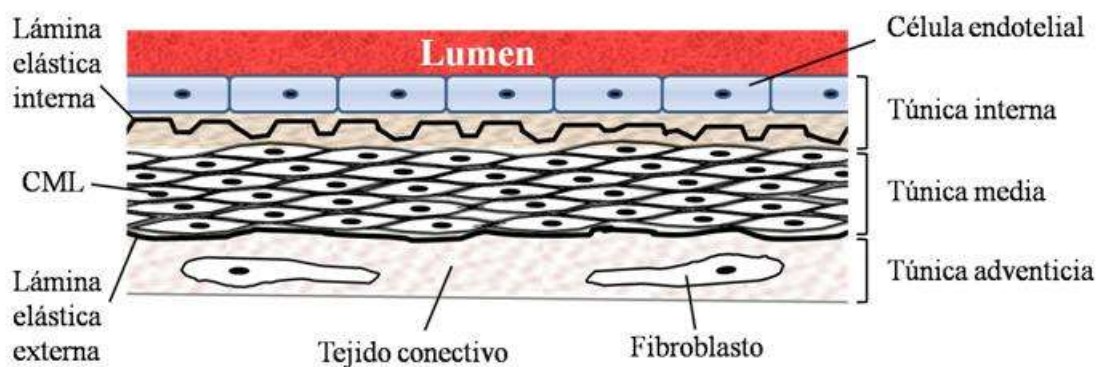
Como es evidente, las arterias juegan un papel protagonista en el proceso aterosclerótico. Estos vasos poseen tres capas concéntricas, la interna o íntima, la media y la externa o adventicia (Libby, *et al.*, 2009) (**Figura 1.6**). La capa interna o íntima, está constituida por el endotelio (un epitelio simple plano), una lámina basal y una capa conjuntiva subendotelial; la capa media está compuesta por CML concéntricas, fibras elásticas y fibras de colágeno; la capa externa o adventicia está formada por tejido conjuntivo laxo (fundamentalmente fibroblastos y colágeno).

En arterias de diámetro superior a 1 mm, la nutrición de estas túnicas y el aporte de oxígeno corre a cargo de una red de microvasos denominados *vasa vasorum* que se originan en la capa adventicia de las arterias (Zargochev & Mulligan-Keboe, 2011). Se han identificado 3 tipos de *vasa vasorum* (internos, externos y venosos), donde el grado y la distribución de la vascularización de los vasos por parte de estos depende del grosor de la pared de los vasos (Langheinrich, *et al.*, 2007).



## Introducción General

El endotelio vascular es un órgano multifactorial, capaz de percibir estímulos sistémicos y locales y modificar su estado funcional para contribuir a mantener la homeostasis de la pared vascular (Badimón, *et al.*, 2009). En condiciones fisiológicas, el endotelio presenta una superficie a través de la cual se produce el intercambio de numerosas moléculas entre la sangre y los tejidos y se controla el tono vascular, el tránsito de células inflamatorias hacia la pared vascular, la respuesta inflamatoria y la deposición de MEC (Onat, *et al.*, 2011).



**Figura 1.6.** Esquema anatómico de la arteria humana. El lumen está limitado por las células endoteliales, las cuales integran la túnica íntima, las células musculares lisas (CML) ocupan la túnica media y la túnica adventicia está compuesta por tejido conectivo y fibroblastos.

La MEC tiene un papel muy importante en los procesos de remodelación del endotelio vascular ya que ejerce una gran influencia sobre el comportamiento celular y morfogénesis vascular. Además interacciona con las células endoteliales mediante receptores de adhesión específicos e interviene en procesos de migración, de proliferación o de interacciones célula-célula durante la formación de vasos sanguíneos a partir de otros pre-existentes (angiogénesis) (Arroyo & Iruela-Arispe, 2010). La regeneración de la MEC está regulada principalmente por las enzimas metaloproteinasas de la matriz (MMP) que se encargan de su degradación. Estas enzimas, a su vez, están controladas por inhibidores específicos, siendo el balance entre estos dos componentes lo que controla la remodelación de la MEC tanto en condiciones

fisiológicas normales como de inflamación (Andoh, *et al.*, 2005). Además, el sistema de activación plasminógeno/plasmina tiene un papel manifiesto en el mantenimiento de la maquinaria sintética de la MEC. En este sistema tiene un papel destacado el PAI-1, ya que a niveles elevados previene la actividad proteolítica y contribuye a disminuir la velocidad de degradación del colágeno, favoreciendo la fibrogénesis en los tejidos (Ghosh & Vaughan, 2012).

Situadas en la túnica media, las CML producen gran parte de los componentes mayoritarios de la MEC, como proteoglicanos (componentes estructurales esenciales), colágeno y elastina (fundamentales en el mantenimiento de la integridad y elasticidad de la pared vascular), así como un gran número de proteínas que determinan el balance entre síntesis y degradación de la MEC (Badimón, *et al.*, 2009). Situados en la túnica adventicia de los vasos, los fibroblastos son células que tienen la función de sintetizar proteínas de la MEC como colágenos y fibronectina. En la actualidad, numerosos estudios revelan que, además de funciones relacionadas con la MEC, los fibroblastos tienen la capacidad de regular e intervenir en la función endotelial (Enzerink & Vaheri, 2011).

#### **1.1.6.2.2. Desarrollo de la aterosclerosis**

La aterosclerosis es una compleja enfermedad crónica de la pared arterial que presenta una etiología multifactorial y se desencadena por factores sistémicos y locales que inducen un deterioro de la función vascular (Libby, *et al.*, 2011). En la aterosclerosis existe un componente inmunológico, con la acumulación de leucocitos en las lesiones ateroscleróticas, al igual que un proceso de desarrollo y deposición de estrías de grasa cargadas de colesterol en los vasos sanguíneos asociado con estrés oxidativo e inflamación (Andersson, *et al.*, 2010). Este proceso de deposición está

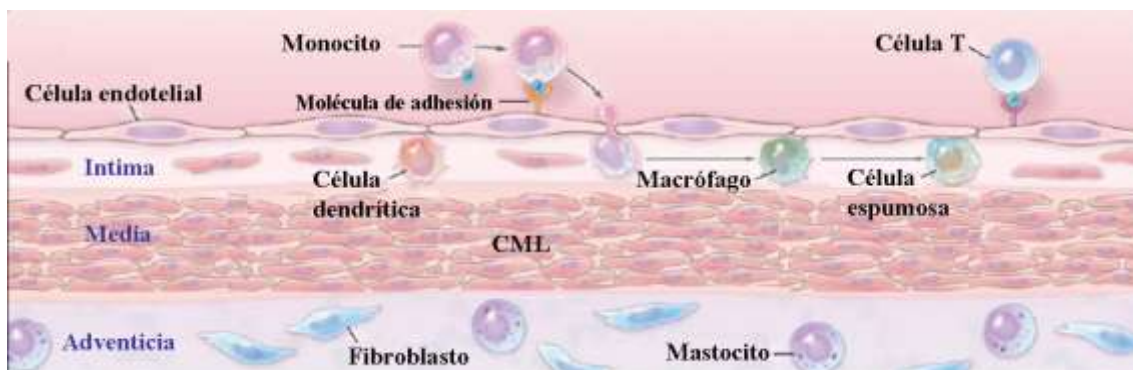
## **Introducción General**

relacionado con la hipercolesterolemia plasmática (presencia de niveles elevados de colesterol en sangre) y especialmente con la concentración elevada de LDL, un grupo heterogéneo de lipoproteínas en cuyo núcleo existen triglicéridos y ésteres de colesterol. El aumento del tránsito de las LDL a través del endotelio vascular lleva a su acumulación en el espacio sub-endotelial; allí interaccionan con componentes de la MEC como proteoglicanos y colágeno (presentan elevada capacidad para interaccionar, retener y agregar lipoproteínas ricas en colesterol) y proteínas, lo que favorece un incremento en su aterogenicidad y su retención en la íntima vascular (Badimón, *et al.*, 2009).

### **1.1.6.2.2.1. Adhesión de monocitos a las células endoteliales**

La aterogénesis empieza como una alteración cualitativa en las células endoteliales, las cuales cuando son sujetas a estímulos oxidativos, hemodinámicos o bioquímicos (provenientes del tabaco, hipertensión o dislipidemia) y factores inflamatorios, cambian su permeabilidad para promover la entrada y retención de monocitos circulantes y de partículas de LDL (Hansson & Hermansson, 2011). La adhesión de los monocitos circulantes a las células endoteliales y su posterior infiltración al espacio sub-endotelial es una etapa primordial durante las lesiones ateroscleróticas. Las LDL, especialmente las formas modificadas, inducen, en las células endoteliales, el aumento de expresión y secreción de compuestos quimiotácticos solubles como la IL-8 y la MCP-1. También inducen un aumento de moléculas de adhesión como el ICAM-1 y el VCAM-1, y de selectinas como la E, L o P, que quedan expuestas en la superficie de las células endoteliales activadas y favorecen la migración, la adhesión y la transmigración leucocitaria (monocitos y células T) (Badimón, *et al.*, 2009) (**Figura 1.7**). El hecho de que las diferentes moléculas de adhesión y

quimiotácticas se expresen de forma casi simultánea en las células endoteliales indica una activación concertada de diferentes genes, a través del NF- $\kappa$ B (Csiszar, *et al.*, 2008a). Las citoquinas pro-inflamatorias IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , producidas por las células endoteliales, tienen un papel muy importante en este punto ya que contribuyen al desarrollo de la lesión aterosclerótica, atrayendo más leucocitos hacia la lesión y estimulando a los monocitos y macrófagos y de este modo facilitando la propagación de la respuesta inmunitaria. Ambas citoquinas contribuyen a la inflamación vascular y a la trans migración celular ya que inducen la expresión de moléculas de adhesión (E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1) y la producción de quimioquinas como la MCP-1, IL-8 y otras citoquinas relacionadas con inflamación como la IL-6 (Hansson & Hermansson, 2011).

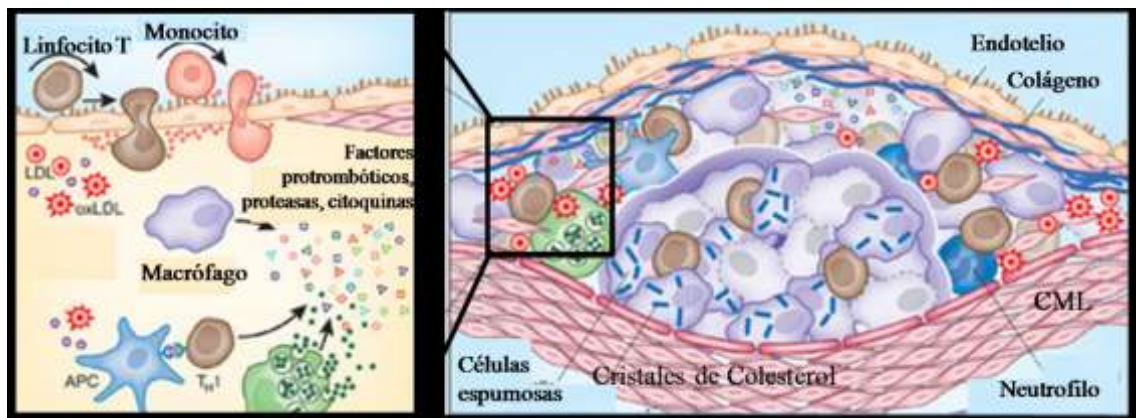


**Figura 1.7.** Fase inicial de la aterosclerosis. Las partículas de LDL oxidadas (LDLox) inducen la expresión de moléculas de adhesión como ICAM-1 y VCAM-1. Los monocitos migran por la íntima donde se diferencian a macrófagos, los cuales seguidamente internalizan las LDLox para convertirse en células espumosas. Los receptores tipo *Toll* estimulan los macrófagos, lo que resulta en la liberación de citoquinas proinflamatorias, como el TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6. Las células T se ven activadas durante este tiempo por las células presentadoras de antígenos y producen mediadores que amplifican aún más la respuesta inflamatoria y contribuyen a la aterosclerosis. Adaptada (Nabel & Braunwald, 2012).

Los monocitos infiltrados en la íntima arterial se diferencian a macrófagos, los cuales internalizan una cantidad elevada de moléculas de colesterol y ésteres de colesterol provenientes de las LDL modificadas. Este proceso de diferenciación e internalización del colesterol está favorecido por la presencia de plaquetas en las lesiones ateroscleróticas. Con la internalización del colesterol se originan las células

## Introducción General

espumosas, que a su vez secretan citoquinas pro-inflamatorias, factores de crecimiento, MMP, IFN- $\delta$  y especies reactivas de oxígeno (ROS), manteniendo un estímulo quimiotáctico para leucocitos adheridos al endotelio vascular, aumentando la expresión de receptores, promoviendo la proliferación de macrófagos y regulando la acumulación de CML en la íntima (Libby, *et al.*, 2011) (**Figura 1.8**). La proliferación de estas células, que liberan mediadores fibrogénicos, genera una densa MEC alrededor de las células espumosas y monocitos que junto con las estrías de grasa permiten el desarrollo de una placa fibrosa (Badimón, *et al.*, 2009). La trombosis es la última complicación del proceso aterosclerótico. La rotura de la placa fibrosa permite a los componentes de coagulación sanguíneos entrar en contacto con el interior de la placa, provocando que el trombo se extienda hacia el interior del lumen dificultando el flujo sanguíneo (Libby, *et al.*, 2011).



**Figura 1.8.** La progresión de la lesión aterosclerótica implica la migración de las CML desde la túnica media hacia la íntima, donde proliferan. Además, sucede una síntesis de componentes de la MEC como el colágeno. En el interior de la placa ocurre la apoptosis de macrófagos y de CML, lo que genera la liberación de lípidos al espacio extracelular y su acumulación en la región central de la placa. En lesiones ateroscleróticas avanzadas se puede observar cristales de colesterol y microvasos sanguíneos. Modificada (Hansson & Hermansson, 2011).

### 1.1.6.2.2.2. Angiogénesis y su papel

La angiogénesis es un proceso fisiológico que consiste en la formación de vasos sanguíneos nuevos (neovascularización) a partir de vasos pre-existentes, siendo este un

fenómeno que tiene lugar durante procesos fisiológicos básicos tales como el desarrollo embrionario, el crecimiento del organismo, la cicatrización de heridas y en procesos patológicos como la aterosclerosis o el desarrollo de tumores (Libby, *et al.*, 2011). En los últimos años, se ha investigado el papel de la angiogénesis en el desarrollo de la aterosclerosis y se sabe que el proceso de neovascularización es un rasgo común de las lesiones ateroscleróticas humanas y que la neovascularización de los *vasa vasorum* favorece la entrada de componentes pro-inflamatorios y pro-ateroscleróticos hacia la pared de los vasos (Göss, *et al.*, 2009).

En la actualidad, existen 2 teorías sobre el mecanismo por el cual las células inflamatorias entran en los vasos para iniciar la respuesta inflamatoria: la teoría de *inside-out* y la de *outside-in*. Según la primera, la respuesta inmune se inicia en la capa íntima mediante la adhesión de células inmunes al endotelio, que después se infiltran en el espacio sub-endotelial; la otra teoría es más reciente y aboga que la respuesta inflamatoria se inicia en la capa adventicia y se dirige hacia la túnica media e íntima. Esta teoría relaciona la neovascularización de los *vasa vasorum* con el desarrollo de la placa aterosclerótica y viene apoyada por estudios recientes en los que se observó un incremento de esta neovascularización, juntamente con un aumento de leucocitos en la capa adventicia y/o la expresión de moléculas de adhesión en los *vasa vasorum* (Göss, *et al.*, 2009, Zargochev & Mulligan-Keboe, 2011).

#### **1.1.6.2.2.1. Migración de las células endoteliales**

El endotelio desempeña un papel clave en el proceso de angiogénesis que tiene lugar en las placas ateroscleróticas, lo cual requiere la migración y proliferación de células del endotelio para generar nuevos vasos en el interior de las lesiones. La migración endotelial durante la angiogénesis está regulada por citoquinas, factores de

## **Introducción General**

crecimiento, angiopoyetinas (proteínas de secreción con función señalizadora), MEC y por el flujo sanguíneo (Lamalice, *et al.*, 2007).

El proceso angiogénico depende de un balance que se produce entre factores pro-angiogénicos e inhibidores angiogénicos. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) promueven la migración de las células endoteliales, siendo, junto con las angiopoyetinas, los principales factores que promueven la migración endotelial (Lamalice, *et al.*, 2007). En general, se considera que el TNF- $\alpha$  es una molécula pro-angiogénica ya que aumenta la producción de VEGF, bFGF e IL-8 (potente factor angiogénico que favorece la migración endotelial) y promueve el proceso angiogénico (Arroyo & Iruela-Arispe, 2010). Sin embargo, se ha publicado que puede actuar como factor angiogénico o antiangiogénico dependiendo del sistema sobre el que actúe, algo que puede deberse a la concentración utilizada (Fajardo, *et al.*, 1992) o al tiempo de exposición (Yoshida, *et al.*, 1997). La IL-1 $\beta$  es otra citoquina pro-inflamatoria que regula la angiogénesis de manera directa favoreciendo la proliferación de las células endoteliales (Jagielska, *et al.*, 2012). Otra molécula clave en la regulación de la angiogénesis es el PAI-1, el cual interviene en los procesos de remodelación vascular y, al igual que ocurre con el TNF- $\alpha$ , puede comportarse como un factor pro-angiogénico a concentraciones fisiológicas o como antiangiogénico a concentraciones elevadas (Diebold, *et al.*, 2008).

### **1.1.7. Importancia de la dieta en la prevención de ECV**

Es bien conocido que el mundo ha sufrido grandes cambios desde mediados del siglo XX, que han repercutido enormemente en el régimen alimentario, primero en las regiones industriales y, más recientemente, en los países en desarrollo. Las dietas

tradicionales, basadas en gran parte en alimentos de origen vegetal, han sido reemplazadas rápidamente por dietas con un alto contenido de grasa, muy energéticas y constituidas principalmente por alimentos de origen animal. La dieta y la nutrición son fundamentales para promover y mantener la buena salud a lo largo de toda la vida y desde hace muchos años se sabe que tienen una importancia crucial como factores de riesgo de enfermedades crónicas, lo que los convierte en componentes fundamentales de las actividades de prevención (WHO, 2003). El consumo de alimentos derivados de productos vegetales como el vino, frutas, hortalizas, frutos secos, cereales, legumbres, especias y otros integrados en la dieta mediterránea, se asocia con efectos beneficiosos para la salud; siendo que muchos nutrientes y fitoquímicos de estos alimentos, que incluyen fibra, vitaminas, minerales, antioxidantes, etc., podrían ser independiente o conjuntamente responsables de la reducción aparente en el riesgo de sufrir enfermedades crónicas (Espín, *et al.*, 2007, Nordmann, *et al.*, 2011). Esas enfermedades crónicas, que incluyen entre otras, la obesidad, la diabetes, y las ECV, son en gran medida prevenibles. De hecho, además del tratamiento médico apropiado para los ya afectados, se considera que el enfoque de salud pública de la prevención es la acción más económica, asequible y sostenible para hacer frente a la epidemia de enfermedades crónicas en todo el mundo (WHO, 2003). En particular, estudios epidemiológicos han sugerido que las dietas bajas en grasas saturadas y ricas en fruta y verdura, al igual que un consumo moderado de vino tienen un papel protector frente al desarrollo y progresión de las ECV (Bhupathiraju & Tucker, 2011). Los avances en el estudio de los procesos implicados en el desarrollo de la enfermedad y los componentes de una dieta sana han abierto puertas para el desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas y/o dietéticas para frenar el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. En este contexto y teniendo en cuenta que debido al ritmo acelerado de vida, hoy en día uno tiende a



## **Introducción General**

descuidar el consumo de frutas y verduras, toman especial importancia los nutraceuticos como promotores de la salud del corazón (Badimon, *et al.*, 2010).

### **1.1.7.1. Alimentos funcionales y nutraceuticos**

En los últimos años, muchos constituyentes bioactivos de los alimentos, incluyendo los compuestos fenólicos, se han utilizado en la comercialización de los llamados alimentos funcionales, los cuales se definen como aquellos que, consumidos regularmente, ejercen un efecto beneficioso más allá de sus propiedades nutricionales para la salud y para el bienestar del individuo, favoreciendo un estatus más saludable o un menor riesgo de padecer una enfermedad. Por su parte, los nutraceuticos se definen como suplementos dietéticos obtenidos a partir de una o varias sustancias naturales bioactivas, presentes usualmente en los alimentos, y presentados en una matriz no alimenticia (píldoras, cápsulas, polvo, etc.). Además, esta(s) sustancia(s) bioactiva(s), al tener una concentración superior a la existente en el alimento *per se*, tienen, presumiblemente, un efecto ventajoso sobre la salud mayor que aquel que podría tener el propio alimento (Espín, *et al.*, 2007). El objetivo de los alimentos funcionales y/o nutraceuticos es incrementar la ingesta de compuestos bioactivos beneficiosos, incluidos los compuestos fenólicos de origen vegetal, con el objetivo de ayudar a prevenir el riesgo de padecer ciertas enfermedades. No obstante, según el Reglamento (CE) 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo del 20/12/2006, cualquier efecto beneficioso debe estar demostrado científicamente, para lo que es esencial establecer qué moléculas y/o derivados metabólicos son los verdaderos responsables *in vivo* de los efectos beneficiosos observados tras el consumo de estos productos o compuestos bioactivos. Otro requisito exigido es tener identificados los mecanismos celulares y

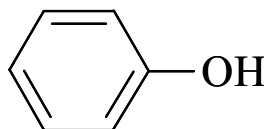
moleculares que se desencadenan en las células y tejidos diana expuestos a estos compuestos y explican dichos efectos beneficiosos.

#### **1.1.7.1.1. Compuestos fenólicos**

##### **1.1.7.1.1.1 Fuentes, estructura y efectos beneficiosos generales**

La capacidad de algunos alimentos derivados de plantas de reducir el riesgo de padecer enfermedades se ha asociado, al menos en parte, a la presencia de metabolitos secundarios no-nutrientes (fitoquímicos) a los que se atribuye una amplia variedad de actividades biológicas (Holst & Williamson, 2008). Estos metabolitos tienen una potencia moderada como compuestos bioactivos y una baja biodisponibilidad en comparación con los fármacos, pero cuando se ingieren regularmente y en cantidades significativas pueden tener efectos fisiológicos perceptibles a medio o largo plazo. Entre los fitoquímicos presentes en los alimentos que se han asociado con un efecto beneficioso sobre la salud se incluyen los glucosinolatos, terpenoides y un extenso grupo de compuestos fenólicos (antocianos, flavonas, flavan-3-oles, isoflavonas, estilbenos, elagitaninos, etc.) (Holst & Williamson, 2008). Los compuestos fenólicos presentan como característica común en su estructura química la presencia de uno o más grupos hidroxilo unidos a uno o más anillos aromáticos o bencénicos (**Figura 1.9**). En general, los compuestos fenólicos que contienen más de un grupo fenólico se denominan polifenoles para distinguirlos de los fenólicos simples. Normalmente, estos compuestos se encuentran en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos por enlaces  $\beta$ -glicosídicos (*O*-glicosilados) o por uniones directas del azúcar a un átomo de carbono del anillo aromático (*C*-glicósidos) (Manach, *et al.*, 2004).

## Introducción General



**Figura 1.9.** El fenol, la estructura fenólica más simple

La actividad biológica de los compuestos fenólicos se ha asociado, al menos en parte, a sus propiedades antioxidantes y a su capacidad para neutralizar los radicales libres implicados en el desarrollo de la inflamación y de las enfermedades degenerativas asociadas (Zdunczyk, *et al.*, 2002). Además, estos compuestos pueden jugar, entre otros, un papel importante en la prevención/reducción de la oxidación y alteración del ADN, y de la oxidación de las LDL, las cuales están intrínsecamente ligadas al desarrollo de la placa de ateroma (Chang, *et al.*, 2000, Espín, *et al.*, 2007, Gimeno, *et al.*, 2007). De todas formas, no toda la bioactividad de los compuestos fenólicos se puede relacionar con la capacidad antioxidante de estas moléculas, debido a que muchos de estos compuestos sufren cambios en su estructura molecular durante el tránsito gastrointestinal y metabolismo en el organismo, pudiendo originar metabolitos cuyas propiedades son distintas de la molécula original. Por ejemplo, se ha demostrado que los metabolitos derivados de los elagitaninos, las urolitinas, presentan actividad antiinflamatoria a pesar de presentar una baja actividad antioxidante (Cerdá, *et al.*, 2004, Larrosa, *et al.*, 2010).

### **1.1.7.1.1.2. Clasificación**

Los compuestos fenólicos están presentes en un amplio rango de productos vegetales y derivados, y se agrupan según su estructura química en dos categorías principales: flavonoides y no flavonoides (Ramos, 2007) (**Tabla 1.1**).

**Tabla 1.1.** Clasificación de los compuestos fenólicos junto con algunos ejemplos concretos y sus fuentes alimenticias.

<b>Grupo</b>	<b>Subgrupo</b>	<b>Moléculas</b>	<b>Fuentes</b>
Flavonoides	Flavonoles	Quercetina Kaempferol Miricetina Isoramnetina	Cebolla amarilla, tomate <i>cherry</i> , brócoli, manzana, té verde y negro, uvas negras, arándanos
	Flavonas	Tangeretina Crisina Apigenina Luteolina	Perejil, apio, pimentón
	Proantocianidinas	Procianidina B1 Procianidina B2	Cacao, chocolate, uva, vino
	Flavan-3-oles	Catequina Epicatequina Epigallocatequina Galocatequinas	Chocolate, guisante, melocotón, albaricoque, vino tinto, té verde y negro, mora
	Flavanonas	Naringenina Hesperetina	Naranja, limón, pomelo
	Antocianos	Cianidina Delfinidina Pelargonidina Peonidina	Grosella, arándano, fresa, vino tinto
	Isoflavonas	Daidzeína Genisteína	Soja, tofu
No flavonoides	Ácidos hidroxicinámicos	<i>p</i> -Cumárico Cafeico Ferúlico Sinápico	Frambuesa, piña, limón, ciruela, uva, brócoli
	Taninos hidrolizables	Galotaninos Elagitaninos	Fresa, granada, frambuesa, nueces, zarzamora
	Ácidos hidroxibenzóicos	Gálico <i>p</i> -Hidroxibenzóico Sirínico Vanillico	Cereza, uva, melón, fresa, grosella, frambuesa, zarzamora
	Estilbenos	Resveratrol Piceido Piceatanol Viniferinas	Vino tinto, uva, cacahuets, pistachos, bayas del género <i>Vaccinium</i>

Los flavonoides poseen un esqueleto con 15 átomos de carbono y se representan en un sistema de tipo C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. El esqueleto de estos compuestos está formado por dos anillos bencénicos unidos a un tercero de tipo  $\gamma$ -pirano (Ferrazzano, *et al.*, 2011). A los flavonoides se les atribuyen numerosas propiedades beneficiosas incluyendo anti-inflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas,

## **Introducción General**

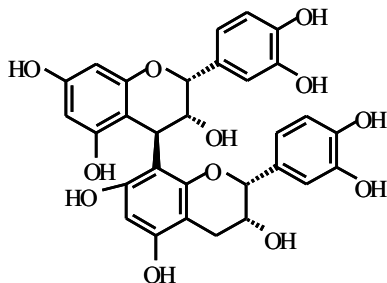
antivirales y anticarcinogénicas, entre otras (Yao, *et al.*, 2004). El grupo de los no flavonoides se divide a su vez en 4 subgrupos: los ácidos hidroxicinámicos, los ácidos benzoicos, los taninos hidrolizables y los estilbenos. Los ácidos hidroxicinámicos son muy abundantes en el café, alcachofa, etc. y en este subgrupo se incluyen los ácidos cumárico, cafeico y ferúlico. Los ácidos hidroxibenzoicos, como el ácido gálico y el elágico, son constituyentes de los taninos hidrolizables encontrándose en frutas como la fresa, la frambuesa, la zarzamora, la granada, etc. Los taninos hidrolizables, clasificados en galotaninos o elagitaninos, están formados por ésteres de ácido gálico y elágico con glucosa u otros azúcares y se encuentran en las nueces, vinos u otras bebidas envejecidas en barrica de roble, granada, fresa, frambuesa, uva (variedad *muscadine*), etc. Finalmente, los estilbenos están presentes en la uva e incluyen, entre otros, al resveratrol (RES), compuesto ampliamente investigado por sus numerosas propiedades beneficiosas (Waterhouse, 2002, Vang, *et al.*, 2011).

Los extractos de uva utilizados en los experimentos que se incluyen en esta Tesis Doctoral contienen mayoritariamente proantocianidinas, antocianos y estilbenos, así que el apartado siguiente se centra en estos tres grupos de compuestos fenólicos.

### **1.1.7.1.1.3. Proantocianidinas o taninos condensados**

Son productos de condensación de flavan-3-oles, que se unen por medio de enlaces covalentes 4→8 y 4→6. La epicatequina es el monómero predominante de los taninos condensados de uva y vino, seguida de la catequina. Los dímeros que se encuentran con más frecuencia son las procianidinas B1 (epicatequina-catequina), B2 (epicatequina-epicatequina) (**Figura 1.10**) y B4 (catequina-epicatequina). También se han identificado trímeros, de los cuales el más frecuente es la procianidina C1 (tres epicatequinas) (Lea, *et al.*, 1979, Rasmussen, *et al.*, 2005). Estos complejos aumentan

durante el proceso de envejecimiento del vino, pudiendo llegar incluso a formar complejos insolubles (Robichaud & Noble, 1990).



Procianidina B2

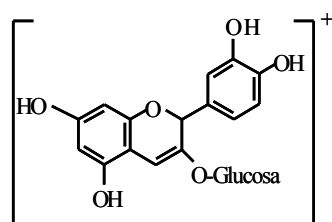
**Figura 1.10.** Estructura molecular de la Procianidina B2.

#### 1.1.7.1.1.4. Antocianos

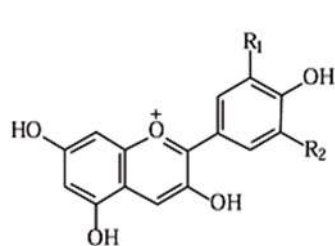
Los antocianos son el grupo más importante de pigmentos naturales, son solubles en agua y responsables del color de la mayoría de los frutos, flores y hojas (Harborne & Williams, 2000). Los pigmentos antociánicos se componen de la aglicona (antocianidina) unida a uno o más azúcares, formando así las antocianinas o antocianos (antocianidina + azúcar). Se encuentran principalmente en uva tinta, vino tinto y frutas rojas como los arándanos, grosellas, fresas, etc. (Manach, *et al.*, 2004).

En la piel de la uva, en el zumo de uva y en el vino se han identificado 5 antocianidinas: cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina (**Figura 1.11**). Estas agliconas se encuentran unidas a una o varias moléculas de azúcar, que, a su vez, pueden estar esterificadas con diferentes ácidos orgánicos. Los antocianos que se encuentran en la uva son delphinidina 3-glucósido, cianidina 3-glucósido (**Figura 1.12**), petunidina 3-glucósido, peonidina 3-glucósido, malvidina 3-glucósido y todos los correspondientes acetilglucósidos y *p*-cumaroilglucósidos, según variedades (Ribereau-Gayon, 1982).

## Introducción General



Cianidina-3-glucósido



**Estructura general**

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
<b>Cianidina</b>	OH	H
<b>Peonidina</b>	OCH <sub>3</sub>	H
<b>Delfinidina</b>	OH	OH
<b>Petunidina</b>	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>Malvidina</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

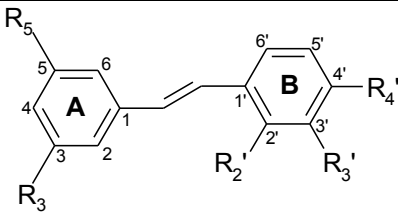
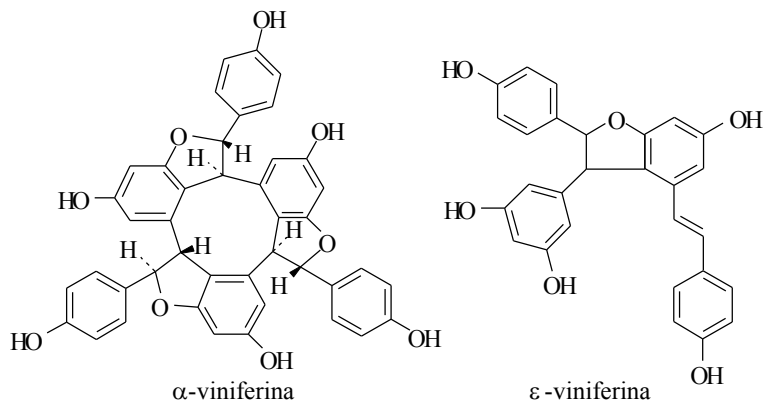
Figura 1.11. Estructura general de las antocianidinas y los cinco tipos identificados.

Figura 1.12. Estructura molecular del antociano cianidina-3-glucósido.

### 1.1.7.1.1.5. Estilbenos

Los estilbenos son moléculas ampliamente distribuidas en el Reino Vegetal. Sin embargo, su presencia en la dieta es poco significativa, restringiéndose básicamente a las uvas, el vino tinto y en menor medida a los cacahuets y a los arándanos (Burns, *et al.*, 2002, Lyons, *et al.*, 2003, Rimando, *et al.*, 2004, Gürbüz, *et al.*, 2007) (**Tabla 1.2**). Químicamente son 1,2-diariletenos. Por lo general, en el anillo A presentan dos grupos hidroxilos en posición *meta*, mientras que el anillo B es sustituido por hidroxilos y metoxilos en posiciones *meta* y/o *para*. Los estilbenos más representativos son el RES y su glucósido piceido, el piceatanol, así como los dímeros y trímeros de RES que dan lugar a las viniferinas, las cuales sólo se han encontrado en uva y vino (Baderschneider & Winterhalter, 2000, Cantos, *et al.*, 2001, Vitrac, *et al.*, 2005).

**Tabla 1.2.** Estructura general de los estilbenos y algunos ejemplos más representativos.

<i>Estilbenos</i>	
	
<i>Estructura general</i>	
<i>trans</i> - y <i>cis</i> - resveratrol (3,5,4'- trihidroxiestilbeno)	$R_3 = R_5 = \text{OH}, R_2' = R_3' = \text{H}, R_4' = \text{OH}$
<i>trans</i> y <i>cis</i> - Piceido ( <i>trans</i> -resveratrol-3- O-β-glucósido)	$R_3 = \text{glucosa}, R_5 = \text{OH}, R_2' = R_3' = \text{H}, R_4' = \text{OH}$
<i>trans</i> - Piceatanol (3',4',3,5- tetrahidroxiestilbeno)	$R_3 = R_5 = \text{OH}, R_2' = \text{H}, R_3' = R_4' = \text{OH}$
<i>trans</i> - Astringina ( <i>trans</i> -piceatanol-3- O-β-glucósido)	$R_3 = \text{glucosa}, R_5 = \text{OH}, R_2' = \text{H}, R_3' = R_4' = \text{OH}$
Pteroestilbeno (3,5-dimetoxi-4'- hidroxiestilbeno)	$R_3 = R_5 = \text{OCH}_3, R_2' = R_3' = \text{H}, R_4' = \text{OH}$
ε-, δ -Viniferinas (dímeros de resveratrol)	
α -Viniferinas (trímeros de resveratrol)	

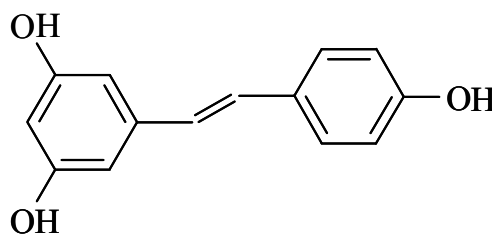


## Introducción General

### 1.1.7.1.1.5.1. *trans*-Resveratrol

#### 1.1.7.1.1.5.1.1. Origen y creciente protagonismo

Dentro de los estilbenos, el RES (3,5,4'-trihidroxi-*trans*-estilbeno) (**Figura 1.13**) es el compuesto más relevante (más de 13.000 entradas bibliográficas al consultar la plataforma ISI WEB OF KNOWLEDGE<sup>SM</sup> desde 1976 hasta la actualidad). Este polifenol fue aislado por primera vez a partir de las raíces de la planta *Veratrum grandiflorum* en 1940 (Takaoka, 1940) y no fue hasta décadas más tarde, cuando se detectó en el vino (Siemann & Creasy, 1992) y se le atribuyeron algunos efectos cardioprotectores (Bertelli, *et al.*, 1995), que el interés por este compuesto empezó. Sin embargo, no fue hasta después de la publicación del trabajo de Jang y colaboradores sobre las propiedades del RES contra el cáncer (Jang, *et al.*, 1997), en la prestigiosa revista *Science*, cuando la comunidad científica empezó realmente a interesarse por este compuesto, por lo que las publicaciones científicas sobre los efectos del RES y sus propiedades beneficiosas para la salud comenzaron a aumentar exponencialmente.



*trans*-resveratrol

**Figura 1.13.** Estructura del *trans*-resveratrol

Como se verá con mayor detalle más adelante, el RES ha sido descrito como un compuesto capaz de ayudar a prevenir o reducir un amplio abanico de disfunciones como cáncer (Jang, *et al.*, 1997, Asensi, *et al.*, 2002), obesidad (Macarulla, *et al.*, 2009), enfermedades hepáticas (Gómez-Zorita, *et al.*, 2012) y ECV (Bradamante, *et al.*, 2004),

entre muchas otras. Además, se le ha atribuido la capacidad de aumentar la resistencia al estrés y prolongar la esperanza de vida de levaduras (Howitz, *et al.*, 2003) hasta vertebrados (Baur, *et al.*, 2006, Valenzano, *et al.*, 2006).

**1.1.7.1.1.5.1.2. Fuentes y relevancia en la dieta**

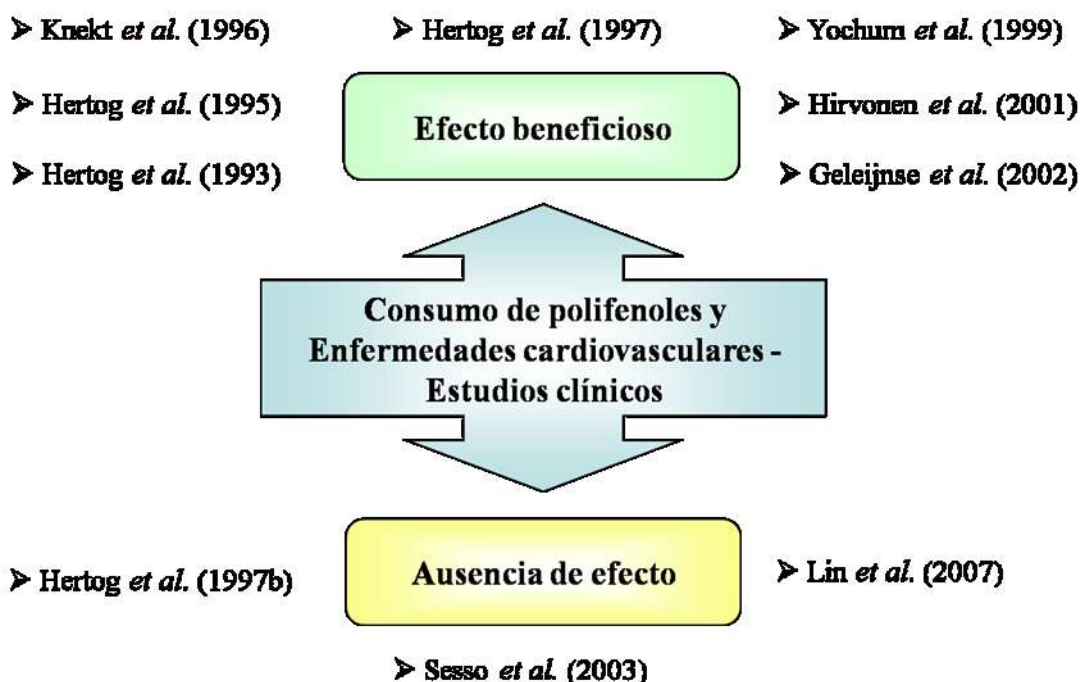
El RES es una fitoalexina por lo que los niveles normales de este compuesto en la uva o en sus productos derivados, como el vino, son muy bajos y variables. La cantidad de RES depende de diversos factores tales como la variedad de vid cultivada, las condiciones agronómicas, la región geográfica y de los procesos enológicos utilizados (Langcake & Pryce, 1976, Siemann & Creasy, 1992). Siendo una fitoalexina, su síntesis se ve aumentada en respuesta al estrés ambiental, sobre todo aquél producido por infecciones bacterianas o fúngicas, así que un vino producido a partir de uvas que hayan sufrido un ataque de este tipo tendrá niveles más altos de RES. En 2007, la revisión bibliográfica realizada por Stervbo y colaboradores (Stervbo, *et al.*, 2007) sobre el contenido de RES en el vino tinto describió que este estilbeno variaba entre el “no detectable” y los 14 mg/L, con un valor medio de  $1,9 \pm 1,7$  mg/L. Sin embargo, estos datos pueden variar dramáticamente en función del número de vinos que sean analizados. Solo en España se producen más de 20.000 tipos distintos de vinos. Si a este dato se le añade Francia, Chile, Italia, etc., podemos concluir que no existe hoy en día una figura representativa del contenido medio de RES en el vino. Los cacahuetes, con un contenido aproximado de 0,02-1,8 mg/g (Sanders, *et al.*, 2000) o algunas bayas del género *Vaccinium*, que contienen cantidades en torno al  $\mu\text{g/g}$  de peso seco (Rimando, *et al.*, 2004), son otras fuentes de RES menos sustanciales.

## Introducción General

### 1.1.8. Polifenoles y ECV

#### 1.1.8.1. Estudios epidemiológicos en personas

En varios estudios, aunque no en todos, se ha encontrado una asociación inversa entre el consumo de polifenoles y la mortalidad por ECV. De hecho, este efecto beneficioso podría ayudar parcialmente a explicar el efecto protector sobre las ECV de algunos alimentos y bebidas que contienen polifenoles (té, verduras, frutas, vino, etc.) (St. Leger, *et al.*, 1979). En la **Figura 1.14** se muestran algunos estudios clínicos desarrollados en personas que relacionan la ingesta de polifenoles en la dieta con las ECV.



**Figura 1.14.** Estudios epidemiológicos que relacionan el consumo de polifenoles y su efecto sobre las ECV. Adaptado (Badimon *et al.*, 2010).

La mayoría de los estudios que observan un efecto beneficioso sobre las ECV asocian el consumo de polifenoles, y más concretamente de flavonoides de la dieta, con un menor riesgo de sufrir infarto de miocardio y con la disminución de la mortalidad

por enfermedad coronaria. Estos estudios aportan información limitada, ya que se han extraído de estudios epidemiológicos en los que se ha estimado la cantidad de compuestos polifenólicos en general, o de algunos grupos en particular, como parte de la dieta diaria de ciertos grupos poblacionales y se ha relacionado con la incidencia de las ECV. A partir de este tipo de estudios, se han planteado muchas cuestiones que se están abordando a través de nuevas aproximaciones experimentales: ¿qué compuestos fenólicos son los responsables de los efectos beneficiosos?, ¿qué cantidad de compuesto es necesaria para observar estos efectos?, ¿qué mecanismos de acción median el efecto de los polifenoles?, etc.

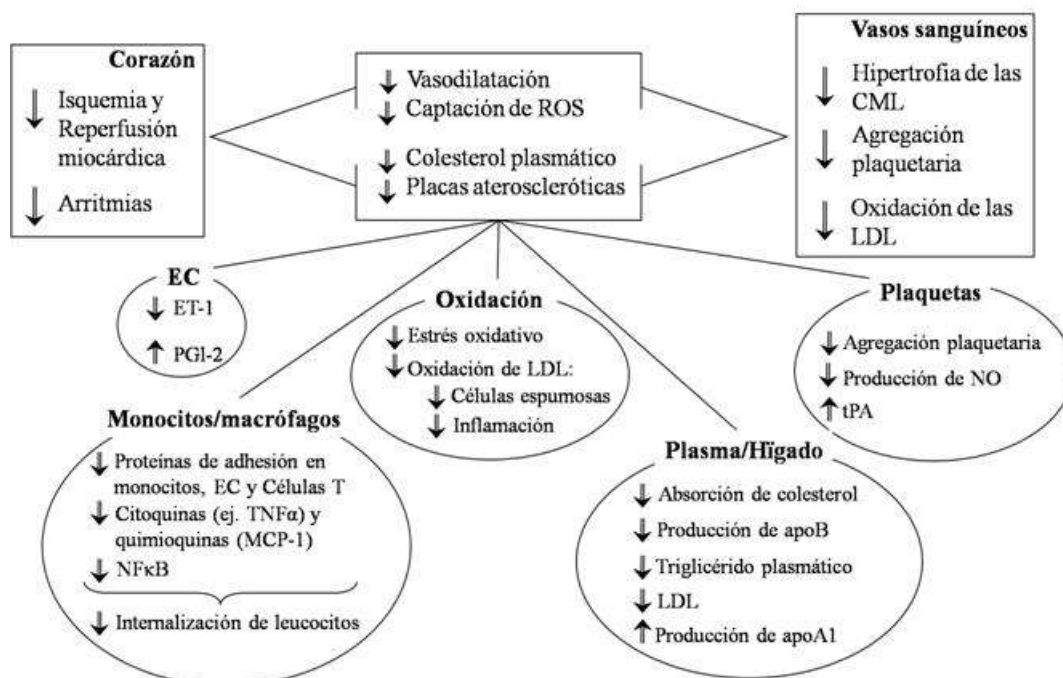
#### **1.1.8.1.1. Potenciales mecanismos de acción**

Los efectos beneficiosos derivados del consumo de polifenoles parecen estar mediados por una serie de rutas bioquímicas y mecanismos de señalización que pueden actuar independiente o sinérgicamente (Badimon, *et al.*, 2010). Además, en estudios *in vivo* se ha observado que los polifenoles ejercen efectos antiateroscleróticos en los estadios tempranos del desarrollo de esta enfermedad disminuyendo, por ejemplo, la oxidación de las LDL; mejoran la función endotelial y aumentan la producción y liberación de óxido nítrico (potente vasodilatador); modulan la inflamación y metabolismo lipídico (efecto hipolipidémico); mejoran el estado antioxidante; y protegen frente a episodios aterotrombóticos que incluyen isquemia miocárdica y agregación plaquetaria (Badimon, *et al.*, 2010). En la **Figura 1.15** se resumen los supuestos mecanismos a través de los cuales los polifenoles pueden proporcionar protección vascular y cardíaca, enfocándose su efecto de ateroprotección.

## Introducción General

### 1.1.8.2. Antocianos y ECV

Los estudios centrados en la prevención del desarrollo de las ECV por los antocianos de la dieta son variados. Los modelos celulares se han usado para investigar potenciales mecanismos de acción de los antocianos sobre el sistema vascular midiendo la respuesta de la expresión génica y de proteínas (Kim, *et al.*, 2006, Xia, *et al.*, 2007). Sin embargo, estos resultados deben interpretarse con reserva debido a las limitaciones subyacentes a las condiciones experimentales *in vitro*.



**Figura 1.15.** Mecanismos de protección vascular y cardíaca propuestos para los polifenoles enfocados en la prevención de la aterosclerosis. EC, células endoteliales; MCP-1, proteína quimiotáctica de monocitos 1; NO, óxido nítrico; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; CML, células musculares lisas; LDL, lipoproteínas de baja densidad; ET-1, endotelina-1; PGI2, prostaciclina; tPA, activador del plasminógeno de tipo tisular; NF- $\kappa$ B, factor nuclear kappa B. Adaptado (Badimon *et al.*, 2010).

Algunos estudios *in vivo*, han reforzado algunos de los efectos cardioprotectores atribuidos al consumo de antocianos, como mejorías en marcadores de riesgo cardiovascular. Por ejemplo, en ratas con hiperlipidemia inducida por la dieta, la ingesta de zumo de aronia redujo los niveles de colesterol total y de colesterol-LDL en plasma (Valcheva-Kuzmanova, *et al.*, 2007). También, en ratones deficientes en

apolipoproteína E, se observó que un extracto de arroz negro rico en antocianos hacía disminuir los niveles de triglicéridos, colesterol total y colesterol no HDL, y reducía la extensión de las placas ateroscleróticas (Xia, *et al.*, 2006). Sin embargo, en un estudio realizado en conejos hiperlipidémicos a los que se les administró un extracto de grosella negra se vio un aumento en los niveles de LDL-colesterol (Finne-Nielsen, *et al.*, 2005).

En humanos, los resultados obtenidos en algunas intervenciones dietéticas controladas investigando el efecto anticolesterolémico y antioxidante de los antocianos o de las bayas ricas en antocianos han sido escasos y no concluyentes. En voluntarios sanos, la ingesta diaria de una mezcla de zumo de bayas, durante 4 semanas, produjo un aumento en los niveles de glutatión reducido y un descenso en el daño oxidativo celular (Weisel, *et al.*, 2006). Sin embargo, tras el consumo de un zumo de grosella negra o una bebida rica en antocianos (de grosella negra), durante 3 semanas, no se observó efecto en los marcadores de daño en el ADN (Moller, *et al.*, 2004). Teniendo en cuenta que en voluntarios sanos los marcadores de estrés o daño son muy bajos, siendo complicado cuantificar posibles cambios o efectos, se han utilizado personas sometidas a condiciones de estrés (trabajo físico o fumadores) o que estaban dentro de grupos de riesgo. En este contexto, se ha descrito que la ingesta de cápsulas de grosella negra aumenta el flujo sanguíneo periférico y mejora la fatiga muscular en voluntarios sanos después de un esfuerzo físico continuo (Matsumoto, *et al.*, 2005). El consumo diario de arándanos durante meses redujo los niveles de hidroperóxidos de lípidos en fumadores crónicos (McAnulty, *et al.*, 2005). Además se ha descrito que el consumo de un extracto comercial de aronia, en combinación con el tratamiento con estatinas, en pacientes con enfermedad isquémica del corazón, durante seis semanas, disminuyó significativamente la inflamación, debido a la reducción de los niveles de isoprostanos séricos y LDL

## **Introducción General**

oxidada, al aumento de la adiponectina y a la reducción de la presión sanguínea (Naruszewicz, *et al.*, 2007).

### **1.1.8.3. Proantocianidinas y ECV**

Después de la lignina, las proantocianidinas son el segundo compuesto fenólico natural más abundante, estando ampliamente distribuidas en el Reino Vegetal y en la dieta humana (uvas, manzanas, fresas, alubias, nueces, cacao, vino, etc.), impartiendo astringencia y sabor a estos productos naturales. Estos compuestos se han investigado ampliamente, prestándose especial atención a sus efectos a nivel del sistema vascular, que incluyen el aumento en la actividad antioxidante del plasma, la disminución de la fracción LDL-colesterol y de sustancias derivadas del estrés oxidativo, la mejora de la vasodilatación endotelial, la disminución de la presión sanguínea y el mantenimiento de la función endotelial (Williamson & Manach, 2005). Estos efectos se han descrito principalmente como consecuencia del consumo de extracto de semilla de uva y de productos derivados del cacao. Desde el punto de vista de los nutraceuticos, los estudios más relevantes son los realizados con extractos de uva. En humanos, se han observado numerosos efectos beneficiosos con el extracto de semilla de uva, entre los cuales se encuentra el aumento en la capacidad antioxidante del plasma (Vinson, *et al.*, 2001), la prevención de estrés oxidativo postprandial en plasma (Natella, *et al.*, 2002), la mejora de la circulación sanguínea en las piernas y la reducción de la retención de líquidos en mujeres pre-menopáusicas (Christie, *et al.*, 2004) y la mejora de la función endotelial en sujetos con alto riesgo cardiovascular (Clifton, 2004).

#### **1.1.8.4. Resveratrol y ECV**

La gran mayoría de los estudios relacionados con la actividad biológica del RES han sido llevados a cabo *in vitro* y en menor extensión en animales modelo. A pesar de la investigación intensiva, gran cantidad de publicaciones y éxito mediático del RES, hasta el momento se han realizado relativamente pocos ensayos clínicos en humanos con este polifenol. Teniendo esto en cuenta, a continuación se presenta un resumen de los principales ensayos preclínicos, seguidos de una actualización específicamente dirigida a la evidencia experimental existente relativa a los ensayos clínicos en humanos relacionados con RES.

##### **1.1.8.4.1. Estudios Preclínicos**

###### **1.1.8.4.1.1. Modelos *in vitro***

Los numerosos estudios *in vitro* realizados hasta ahora han contribuido a engrosar la larga lista de potenciales efectos del RES junto con las dianas moleculares directas o indirectas y los mecanismos de acción que los median, los cuales muchas veces se solapan. En esta sección hemos incluido las investigaciones *in vitro* recientes relacionadas con los potenciales mecanismos y dianas moleculares del RES posiblemente involucrados en la prevención o retraso de males tales como las enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y cáncer, o en otras capacidades atribuidas al RES como el retraso del envejecimiento.

Durante las últimas dos décadas la gran mayoría de los resultados *in vitro* publicados se han obtenido después de exponer las células a concentraciones de RES del orden micromolar (hasta 200  $\mu\text{M}$ ). Las dosis dietéticas de RES son muy bajas y consecuentemente las concentraciones fisiológicas humanas encontradas para esta molécula y sus metabolitos generalmente no van más allá de los 50 nM y 2  $\mu\text{M}$ ,



## **Introducción General**

respectivamente (Goldberg, *et al.*, 2003, Walle, *et al.*, 2004), a pesar de que concentraciones plasmáticas excepcionalmente altas de RES (4,2  $\mu\text{M}$ ) y metabolitos derivados (18  $\mu\text{M}$ ) han sido detectados tras la ingesta de una alta dosis micronizada de RES (5 g) (Brown, *et al.*, 2010). Teniendo esto en cuenta, más recientemente se han usado concentraciones en el rango nanomolar en estudios *in vitro* para reproducir condiciones fisiológicas más representativas.

Como se ha mencionado anteriormente, en 1997, Jang y colaboradores demostraron un efecto preventivo del RES en las 3 fases de desarrollo (iniciación, promoción y progresión) de cáncer de piel en un modelo de ratón. Desde entonces, la actividad anticancerígena del RES ha sido objeto de un gran número de investigaciones. Como resultado, se han descrito varias dianas moleculares del RES cuya modulación lleva a la inhibición del crecimiento y muerte en las células cancerosas. Muchos estudios *in vitro* han demostrado de manera consistente efectos anticancerígenos del RES en una variedad de células cancerosas humanas, incluyendo modelos de colon, próstata, mama, melanoma, hígado, glioma, etc. Algunos de los trabajos más relevantes sobre el RES y cáncer se encuentran listados en la **Tabla Suplementaria 1**. La mayoría de los estudios han indicado que el RES ejerce una actividad antiproliferativa en diferentes líneas celulares a través de la inducción de la apoptosis y/o de la detención del ciclo celular, principalmente en la fase  $G_0/G_1$ . Se han identificado varias dianas moleculares y/o mecanismos tales como rutas de transducción de señales y proteínas reguladoras del ciclo celular asociadas con la detención del ciclo celular inducido por el RES. Entre estos, el RES modificó el balance de ciclinas y de quinasas dependientes de ciclinas llevando a la detención del ciclo celular en una fase específica. Por ejemplo, la inhibición de la ciclina D1/cdk4 por el RES ha sido asociada a la detención en la fase  $G_0/G_1$  de diferentes células cancerosas (Wolter, *et al.*, 2001, Benitez, *et al.*, 2007, Bai, *et*

*al.*, 2010, Gatouillat, *et al.*, 2010). Además, se ha descrito que el RES aumenta las ciclinas A y E en líneas celulares cancerosas con una detención en las fases S y G<sub>2</sub>/M (Ferry-Dumazet, *et al.*, 2002, Filippi-Chiela, *et al.*, 2011). Hallazgos similares han demostrado que RES ejerce la parada del ciclo celular y la activación de la ruta dependiente de p53 (Alkhalaf & Jaffal, 2006, Liao, *et al.*, 2010, Hsieh, *et al.*, 2011, Rashid, *et al.*, 2011). También se ha descrito que el RES inhibe la expresión de la proteína del retinoblastoma (Rb), otra proteína supresora de tumores involucrada en la transición G1/S en un estadio normal (Bai, *et al.*, 2010, Filippi-Chiela, *et al.*, 2011, Hsieh, *et al.*, 2011) (**Tabla Suplementaria 1**).

En relación a la inducción de la apoptosis ejercida por RES en varias células cancerosas, se ha descrito que esta molécula puede activar caspasas, sobretodo la 3 y la 9 (Aziz, *et al.*, 2006, Sareen, *et al.*, 2006, Benitez, *et al.*, 2007, Li, *et al.*, 2011, Lin, *et al.*, 2012). Asimismo, en líneas celulares cancerosas, la inhibición de proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2, como Bax, Bak o Bad, y de la familia de los inhibidores de apoptosis (IAP), como el cIAP-2 o XIAP, también ha sido demostrada como un mecanismo de activación de caspasas y de liberación de citocromo C (Aziz, *et al.*, 2006, Bhardwaj, *et al.*, 2007). Otros mecanismos moleculares involucrados en los efectos antiproliferativos del RES contra células cancerosas incluyen la supresión de la ruta PI3K/Akt/mTOR (Aziz, *et al.*, 2006, Faber, *et al.*, 2006, Bai, *et al.*, 2010, Puissant, *et al.*, 2010); la inhibición del factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), un factor de transcripción relacionado en la regulación de la proliferación y de la respuesta al estrés apoptótico (Chen, *et al.*, 2005, Pozo-Guisado, *et al.*, 2005, Yu, *et al.*, 2008, Lee, *et al.*, 2011); la inhibición de la ruta de señalización Wnt (Hope, *et al.*, 2008, Vanamala, *et al.*, 2010); y la modulación de miembros de la familia de las quinasas activadas por mitógenos (MAPK), mayormente la activación de las quinasas reguladas por señales extracelulares

## **Introducción General**

(EKR) y p38 (Ulrich, *et al.*, 2006, Banerjee Mustafi, *et al.*, 2010, Colin, *et al.*, 2011). De igual modo, se ha sugerido que el RES tiene un papel en la inhibición de procesos dependientes de la angiogénesis, tales como el crecimiento tumoral, la migración celular e invasión, y metástasis. También se ha descrito que disminuye el leucotrieno B4, y la expresión de MMP, sobretodo la MMP-9 (Pozo-Guisado, *et al.*, 2005, Lee, *et al.*, 2011, Annabi, *et al.*, 2012) y marcadores de angiogénesis como VEGF, EGFR o FGF-2 (Bai, *et al.*, 2010, Vergara, *et al.*, 2011) (**Tabla Suplementaria 1**). Contrariamente a lo que se ha descrito en muchos modelos de células cancerosas, el RES tiene un papel antiapoptótico en células neuronales (**Tabla Suplementaria 2**). En estudios con agentes neurotóxicos, como el péptido A $\beta$  o el 1-metil-4-fenilpiridina (MPP+), el RES ejerció efectos anti apoptóticos evitando la activación de la caspasa-3, aumentando la proteína Bcl-2 (Bournival, *et al.*, 2009) y activando la proteína quinasa C (Han, *et al.*, 2004). Además, en células expuestas a la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) o al péptido A $\beta$ , este estilbeno promueve la supervivencia neuronal en una manera dependiente de SIRT-1 (Chen, *et al.*, 2005). Finalmente, se ha demostrado que el RES tiene un efecto antiamiloidogénico facilitando la liberación de péptido A $\beta$  en el cerebro a través de la modulación de la actividad proteosómica (Marambaud, *et al.*, 2005) y la inhibición de la formación de A $\beta$  (Vingtdeux, *et al.*, 2010) (**Tabla Suplementaria 2**).

Muchos estudios *in vitro* se han enfocado en la identificación de dianas y mecanismos a través de los cuales el RES ejerce efectos beneficiosos cardiovasculares y neuroprotectores, incluyendo su capacidad antioxidante y anti-inflamatoria. La capacidad antioxidante del RES ha sido avalada por muchos estudios *in vitro* donde varios modelos relacionados con el sistema neurológico y vascular (Tablas Suplementarias 2 y 3, respectivamente) han sido expuestos a concentraciones de este polifenol del orden bajo micromolar. Se ha demostrado que el RES actúa como un

inhibidor de radicales hidroxilo, superóxido e inducidos por metales (Leonard, *et al.*, 2003). Sin embargo, su capacidad de inhibir la formación de ROS puede ocurrir a través de oxidasas de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) (Chow, *et al.*, 2007, Zhang, *et al.*, 2010), denominadas NOX y por la inducción de enzimas antioxidantes o sus sustratos, como la superóxido dismutasa (SOD) (Chow, *et al.*, 2007, Spanier, *et al.*, 2009, Xia, *et al.*, 2010), tioredoxina (Kaga, *et al.*, 2005), hemo-oxigenasa-1 (HO-1) (Kaga, *et al.*, 2005, Thirunavukkarasu, *et al.*, 2007), glutatión peroxidasa-1 (GPx1) (Chow, *et al.*, 2007, Spanier, *et al.*, 2009) y catalasa (Xia, *et al.*, 2010). De acuerdo con la evidencia publicada, el RES tiene la capacidad de mejorar la función endotelial sobretodo estimulando la producción de óxido nítrico (NO) (Klinge, *et al.*, 2008, Yang, *et al.*, 2010, Takahashi & Nakashima, 2012) a través de múltiples mecanismos, como el aumento de la expresión y/o actividad de la sintasa de NO endotelial (eNOS) (Wallerath, *et al.*, 2002, Csiszar, *et al.*, 2009, Yang, *et al.*, 2010) incluso en concentraciones fisiológicas (Klinge, *et al.*, 2005, Klinge, *et al.*, 2008, Takahashi & Nakashima, 2012). Se ha sugerido que el RES hace aumentar la actividad de la eNOS a través de la proteína quinasa activada por 5'-adenosina monofosfato (AMPK) o fosforilación en la Ser1177 mediada por las proteínas quinasas 1 y 2 reguladas por estímulos extracelulares (ERK1/2) (Klinge, *et al.*, 2008, Xu, *et al.*, 2009). La sobre-expresión de eNOS es, al menos en parte, mediada por la deacetilasa de histona dependiente de NAD sirtuína 1 (SIRT-1) (Csiszar, *et al.*, 2009, Spanier, *et al.*, 2009, Yang, *et al.*, 2010). Estudios recientes sugieren que el RES puede activar la SIRT-1 indirectamente a través del AMPK (Park, *et al.*, 2012) y que la activación del factor relacionado al factor nuclear eritroide-2 (NF-E2), el Nrf-2, es un mecanismo clave por el cual el RES confiere efectos citoprotectores en el sistema cardiovascular (Ungvari, *et al.*, 2010) (**Tabla Suplementaria 3**).

## **Introducción General**

Otra de las principales propiedades atribuidas al RES es su acción anti-inflamatoria. Ensayos *in vitro* demostraron que el RES tiene la capacidad de atenuar la adhesión de monocitos al endotelio (Moon, *et al.*, 2006), hasta en concentraciones en el rango nanomolar (Csiszar, *et al.*, 2006), y de prevenir la migración celular endotelial espontánea a través de un mecanismo dependiente de quinasa Rho (Cicha, *et al.*, 2011). Este polifenol puede revertir la producción de ROS inducidas por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , y extracto de humo de cigarrillo (Csiszar, *et al.*, 2008b, Sayin, *et al.*, 2011), la activación de NF- $\kappa$ B (Ferrero, *et al.*, 1998, Chen, *et al.*, 2005, Csiszar, *et al.*, 2006, Sayin, *et al.*, 2011) y la sobre-expresión de marcadores de inflamación como IL-6, TNF- $\alpha$ , proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) y la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) (Csiszar, *et al.*, 2008b, Cicha, *et al.*, 2011). También reduce la expresión de moléculas de adhesión como la moléculas de adhesión vascular celular (VCAM-1) y la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1) (Ferrero, *et al.*, 1998, Csiszar, *et al.*, 2006), probablemente debido a la inhibición de la ruta de señalización p38/MAPK (Kim, *et al.*, 2011a) (**Tabla Suplementaria 3**). Además, el RES tiene como diana la ciclooxigenasa (COX)-1, suprime la expresión y actividad de la COX-2 (Annabi, *et al.*, 2012) y las señales subsecuentes como la prostaglandina (Subbaramaiah, *et al.*, 1998, Dave, *et al.*, 2008). Igualmente se ha demostrado que el RES eleva la síntesis de proteoglicanos en condrocitos (Dave, *et al.*, 2008). Por otro lado este polifenol también ha sido asociado con la modulación lipídica. *In vitro*, concentraciones de RES del orden  $\mu$ M redujeron la síntesis de lípidos en adipocitos 3T3-L1, y disminuyeron la acumulación de lípidos y la viabilidad celular en pre-adipocitos 3T3-L1 en proceso de maduración (Picard, *et al.*, 2004, Rayalam, *et al.*, 2008). Asimismo, en adipocitos 3T3-L1 maduros, concentraciones de RES del orden del micromolar incrementaron la lipólisis y redujeron la lipogénesis, contribuyendo a reducir la acumulación lipídica *in vitro*; además, este

estilbena disminuyó la viabilidad celular de manera dependiente de la dosis e indujo la apoptosis (Rayalam, *et al.*, 2008, Szkudelska, *et al.*, 2009). En un estudio con preadipocitos y adipocitos maduros humanos se ha sugerido que el RES (>10  $\mu$ M) influye en la masa de tejido adiposo a través de la inhibición de la proliferación de preadipocitos, de la diferenciación adipogénica, y de la lipogénesis *de novo* en una manera dependiente de SIRT-1. Igualmente, el RES influyó en el perfil secretorio de preadipocitos humanos de una forma que puede interferir con el desarrollo de comorbilidades asociadas con la obesidad (Fischer-Posovszky, *et al.*, 2010). Otro estudio en adipocitos humanos reveló que, de manera independiente de SIRT-1, el RES aumentó la apoptosis de adipocitos humanos inducida por el ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF- $\alpha$  (TRAIL) (Mader, *et al.*, 2010). Un estudio muy reciente demostró por primera vez el efecto hipolipemiante de los metabolitos del RES en adipocitos maduros, a pesar de que las concentraciones necesarias para producir tal efecto no son representativas de los niveles fisiológicos (Lasa, *et al.*, 2012).

Un efecto adicional del RES tiene que ver con su capacidad para inhibir la agregación plaquetaria. Esta inhibición se ha visto con concentraciones de RES en el orden  $\mu$ M (Shen, *et al.*, 2007) y nM (Yang, *et al.*, 2008) y posiblemente está relacionada con la inhibición de la ruta p38/MAPK y la activación del NO/guanosina monofosfato cíclica, resultando en la inhibición de la fosfolipasa C y/o de la activación de la proteína quinasa C, llevando a una reducción en la concentración de calcio intracelular y en la formación de radicales libres, y finalmente a la agregación plaquetaria. Por otro lado, se ha sugerido que concentraciones más elevadas de RES inducen la apoptosis plaquetaria, lo cual, en parte, se debe a la estimulación de la disipación del potencial de membrana mitocondrial, activación de las caspasas -3, -8 y -9, y liberación de citocromo C (Lin, *et al.*, 2009).

## **Introducción General**

A pesar de poco frecuentes, los estudios dirigidos a los efectos antienviejimiento del RES sugieren generalmente que estos se ejercen a través de la inhibición del estrés oxidativo, a la bajada de los niveles de inflamación, y al aumento de la expresión de SIRT-1 y de cascadas de señales reguladas por las sirtuínas (Stefani , *et al.*, 2007, Tang, *et al.*, 2012) (**Tabla Suplementaria 4**). Además, muchas de estas redes de señalización están estrechamente relacionadas. Los niveles de SIRT-1, por ejemplo, se encuentran regulados por la homeostasis energética y estrés oxidativo en el hipocampo y córtex cerebral de ratas, así que la modulación de la SIRT-1 también regula los niveles de ROS (Wu, *et al.*, 2006).

En conclusión, la investigación *in vitro* llevada a cabo hasta ahora con RES ha llevado a un gran progreso en el descubrimiento de sus dianas moleculares y sus mecanismos de acción (**Figura 1.16**). Las evidencias disponibles provenientes de estudios *in vitro* en relación al mecanismo protector del RES contribuyen a su papel como modulador antioxidante y anti-inflamatorio de diversas rutas de señalización y factores de transcripción. Esta modulación afecta a procesos celulares importantes como apoptosis, detención del ciclo celular, migración y adhesión celular, regulación de lípidos, etc. Sin embargo, hay que destacar que los resultados provenientes de estudios donde se testaron concentraciones de RES fisiológicamente más representativas aportan evidencias más fiables a la hora de discutir los distintos papeles atribuidos a este polifenol.

### **1.1.8.4.1.2. Animales modelo**

En las últimas décadas, la investigación llevada a cabo *in vivo* en animales modelo ha crecido sustancialmente y los resultados han contribuido a filtrar la gran cantidad de información derivada de estudios *in vitro*. Los potenciales efectos del RES vistos *in*

*vitro* junto con las varias dianas directa o indirectas posibles y los mecanismos de acción que los median, los cuales muchas veces se solapan, pueden hoy en día ser confrontados con los datos obtenidos *in vivo*. En esta sección se resume la evidencia *in vivo* disponible en relación a los potenciales mecanismos y dianas moleculares del RES y su asociación con la prevención o desaceleración del cáncer, de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, y del envejecimiento.

Un amplio número de estudios *in vivo* acerca de los efectos anticancerígenos del RES en diferentes modelos de roedores han demostrado que la administración oral, tópica y/o inyectada puede prevenir la carcinogénesis inducida, incluyendo la capacidad de disminuir la proliferación celular, inducir la apoptosis, e inhibir la angiogénesis, la metástasis y el crecimiento tumoral. Los efectos del RES están involucrados en una pléthora de rutas celulares contra numerosos tipos de cáncer como melanoma, pulmón, hígado, mama, glioma, próstata y colorrectal (**Tabla Suplementaria 5**). Sin embargo, los prometedores resultados anticancerígenos *in vitro* no han sido confirmados en algunos estudios donde no se han observado diferencias entre la exposición al RES y los controles, sugiriendo que otros factores, tales como la dosis, la dieta, los métodos y el tipo de tumor, pueden influir en su eficacia (Bove, *et al.*, 2002, Ziegler, *et al.*, 2004, Stakleff, *et al.*, 2012, Zunino, *et al.*, 2012).



<p><b>ANTI-ENVEJECIMIENTO</b></p> <p><b>Inhibición de la Respuesta Inflamatoria:</b> ↓TNF<math>\alpha</math>; ↓iNOS; ↓sCD40L; ↓IL-6; ↓IL-8; ↓MCP-1; ↓ICAM-1; ↓MIP-<math>\beta</math>; ↓GRO-<math>\alpha</math>; IFN-<math>\gamma</math></p> <p><b>Reducción del Estrés Oxidativo:</b> ↑NO; ↑SOD; ↑GPx1; ↑CAT; ↓ROS; ↓VEGF; ↓p53; ↓NOX; ↓MDA; ↑Biogénesis mitocondrial</p> <p><b>Modulación Metabólica/Longevidad:</b> ↑Telomerasa; ↑Tiempo de vida; ↑Cognición y locomoción; ↑Adiponectina; ↓Glucosa; ↓Índice HOMIA-IR</p> <p><b>Modulación de Rutas de Señalización. Proteínas Quinasas y Factores de Transcripción:</b> ↑Nrf2; ↓NFK<math>\beta</math>; ↑PGC-1<math>\alpha</math>; ↓Akt; ↓mTOR; ↑Wnt; ↑AMPK; ↑SIRT1</p>	<p><b>ANTI-ECV/DIABETES/OBESIDAD</b></p> <p><b>Inhibición de la Respuesta Inflamatoria Vascular:</b> ↓TNF<math>\alpha</math>; ↓iNOS; ↓COX-2; ↓IL-6; ↓IL-8; ↓MMP-9; ↓MCP-1; ↓PGE<math>_2</math>; ↓CRP; ↓TGFB; ↓VCAM-1; ↓VCAM-1; ↓Reclutamiento y infiltración de leucocitos; ↓Agregación plaquetaria</p> <p><b>Mejora en la Función Vascular y Reducción del Estrés Oxidativo:</b> ↑eNOS; ↑NO; ↑BH<math>_4</math>; ↑SOD; ↓MPO; ↑GPx1; ↑CAT; ↑HO-1; ↑Trx-1; ↓NOX; ↓ROS; ↑GSH; ↑NQO-1; -2; ↑GCLC; ↑GCH1; ↓p53; ↑Biogénesis mitocondrial; ↓O<math>_2</math> mitocondrial</p> <p><b>Mejora en Hipertensión y Lesión Cardíaca:</b> ↓Presión sanguínea; ↓Tamaño del MI; ↓Hipertrofia cardíaca; ↓Disfunción cardíaca; ↑Tasa de supervivencia; ↑VEGF</p> <p><b>Modulación Metabólica:</b> ↑Tasa metabólica; ↑Sensibilidad a insulina; ↓Glucosa en la sangre; ↓Total-c; ↓TG; ↓FFA; ↓LDL-c; ↑HDL-c; ↓Esteatosis; ↓ApoB/ApoA1; ↑Adiponectina; ↓HMG-CoA reductasa; ↓Proliferación de preadipocitos; ↓Diferenciación adipogénica; ↓Lipogénesis de novo; ↓Expresión de genes lipogénicos</p> <p><b>Modulación de Rutas de Señalización. Proteínas Quinasas y Factores de Transcripción:</b> ↓JERK1/2; ↓NFK<math>\beta</math>; ↑Nrf1; -2; ↓PI3K/Akt/mTOR/p70S6; ↓PPAR<math>\alpha</math>; ↑PGC-1<math>\alpha</math>; ↓Sp-1; ↑SIRT1; ↑AMPK</p>
--	---

**Resveratrol: Evidencia Preclínica**

<p><b>ANTI-CÁNCER</b></p> <p><b>Inducción de Apoptosis:</b> ↑Caspasa-3, -7, -8, -9; ↑Cit c; ↑Bax; ↑Bim; ↑TRAIL; ↓Bcl-2, -xL; ↓Bcl-1/A1; ↓Bak; ↓Bad; ↓Bid; ↓cIAPs; ↓XIAP; ↓Survivina; ↓mTOR; ↓p70S6K; ↓TRAF2; ↓Procaspasa-8; ↑APAF-1</p> <p><b>Inhibición de la Migración e Invasión Celular:</b> ↑TIMP-1, -2; ↓MMP-9, -2; ↓VEGF; ↓EGFR2; ↓FGF-2; ↓MTAI; ↓VCAM-1</p> <p><b>Interrupción del Ciclo Celular:</b> ↑Ciclina-A, -E; ↓p53, p21, p27; ↑WAF1; ↓Ciclina-D1, -B; ↓cdk-4, -7, -1, -2; ↓p34cdc2; ↓Rb; ↓E2F</p> <p><b>Modulación de Rutas de Señalización. Proteínas Quinasas y Factores de Transcripción:</b> ↑ERK; ↓p38; ↓JNK; ↓Wnt; ↓PI3K/Akt; ↓Akt/PKB; ↑PPAR<math>\gamma</math>; ↑STAT3; ↑c-fos; ↑c-jun; ↓NFK<math>\beta</math>; ↓FOXO; ↓E2F; ↓c-myc; ↓PTEN; ↑Nrf2; ↓FOXO3; ↑SIRT1</p>	<p><b>ANTI-ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS</b></p> <p><b>Inhibición de la Respuesta Inflamatoria:</b> ↓TNF-<math>\alpha</math>; ↓iNOS; ↓COX-2; ↓IL-6; ↓IL-1<math>\alpha</math>; ↓IL-1<math>\beta</math>; ↓MMP-9; ↓p-p53</p> <p><b>Reducción del Estrés Oxidativo:</b> ↑eNOS; ↑NO; ↑SOD; ↑GPx1; ↑CAT; ↑HO-1; ↓MPO; ↓ROS; ↑GSH; ↑VEGF; ↑Trx-2; ↓XO; ↓MDA; ↑Biogénesis mitocondrial</p> <p><b>Inhibición de Apoptosis:</b> ↓Caspasa-3, -7; ↓Cit c; ↓Bax; ↑Bcl-2</p> <p><b>Función Neurológica:</b> ↓Déficit neurológico; ↓Péptido <math>\beta</math>-amiloide; ↑Memoria; ↑Supervivencia neuronal; ↑Respuesta motora; ↑TH; ↑Dopamina; ↑AChE</p> <p><b>Modulación de Rutas de Señalización. Proteínas Quinasas y Factores de Transcripción:</b> ↑Nrf-2; ↓NFK<math>\beta</math>; ↑p38MAPK; ↑PGC-1<math>\alpha</math>; ↓c-fos; ↓PI3K/Akt; ↓mTOR; ↓PPAR; ↑AMPK; ↓CREB; ↓PKC; ↑SIRT1</p>
---	---

**Figura 1.16.** Evidencia preclínica relacionada con RES. AMPK, proteína quinasa activada por adenosina monofosfato; APAF, factor activador de proteasas apoptóticas; Apo, apolipoproteína; Bad, promotor de muerte celular asociado a Bcl-2; Bak, proteína destructora del antagonista homólogo Bcl-2; Bax, proteína X asociada al Bcl-2; Bcl-2, linfoma de células B 2; Bcl-xL, linfoma de células B grandes; BFL-1/A1, proteína A1 relacionada con Bcl-2; Bid, proteína agonista de muerte celular con dominio de interacción BH3; BH<sub>4</sub>, tetrahidrobiopterina; Bim, facilitador de apoptosis 11 semejante a Bcl-2; CAT, catalasa; cdk, quinasa dependiente de ciclinas; cIAP, inhibidor de proteínas apoptóticas; COX, ciclooxigenasa; CREB, Proteína ligadora del elemento de respuesta al adenosina mono fosfato cíclico; CRP, proteína C reactiva; Cit-c, citocromo C; E2F, factor de transcripción E2F; EGFR, receptor del factor de crecimiento endotelial; eNOS, sintasa del óxido nítrico endotelial; ERK, quinasa regulada por señales extracelulares; FFA, ácidos grasos libres; FGF, factor de crecimiento de los fibroblastos; FOXO, factor de transcripción en forma de horquilla; GCH1, guanosina trifostato ciclohidrolasa 1; GCLC, subunidad catalítica de la glutamato-cisteína ligasa; GPx, glutatona peroxidasa; GRO- $\alpha$ /CXCL1, ligando de quimoquinas 1 (motivo C-X-C); GSH, glutatona; HDL-c, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; HMG-CoA, 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A; HO-1, heme oxigenasa 1; HOMA-IR, modelo de homeostasis de la resistencia a la insulina; ICAM-1, molécula de adhesión intracelular 1; IFN- $\gamma$ , interferón gamma; IL, interleuquina; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; JNK, quinasa N-terminal del factor c-Jun; LDL-c, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; MAPK, proteína quinasa activada por mitógenos; MCP, proteína quimiotáctica de monocitos 1; MDA, malondialdehído; MI, infarto de miocardio; MIP, proteína inflamatoria de los macrófagos; MMP, metaloproteinasas de la matriz; MPO, mieloperoxidasa; MTA, proteína asociada a metástasis; mTOR, diana de la rapamicina en los mamíferos; NF- $\kappa$ B, factor nuclear kappa B; NO, óxido nítrico; NOX, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa; NQO, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato:quinona oxidoreductasa; Nrf-2, factor 2 relacionado con el factor nuclear E<sub>2</sub>; p21<sup>Waf1/Cip1</sup>, inhibidor de quinasas dependientes de ciclinas 1A; p27, inhibidor de quinasas dependientes de ciclinas 27; p53, proteína tumoral 53; p70S6K, quinasa p70S6; PGC1 $\alpha$ , co-activador 1 alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PKB, proteína quinasa B; PGE<sub>2</sub>, prostaglandina E<sub>2</sub>; PI3K, fosfoinositol 3 quinasa; PKC, proteína quinasa C; PPAR, receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PTEN, homólogo de la fosfatasa y tensina; Rb, proteína (supresora de tumores) del retinoblastoma; ROS, especie reactiva de oxígeno; sCD40L, ligando CD40 soluble; SIRT1, sirtuina 1; SOD, superóxido dismutasa; STAT, transductor de señal y activador de la transcripción; TG, triglicéridos; TGF, factor de crecimiento transformante; TH, tirosina hidroxilasa; TIMP, inhibidores tisulares de MMP; TNF, factor necrosis tumoral; Total-c, colesterol total; TRAF, factor asociado al receptor de TNF; TRAIL, ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF; Trx, tioredoxina; VCAM-1, molécula de adhesión de las células vasculares 1; VEGF, factor de crecimiento del endotelio vascular; XIAP, proteína inhibidora de apoptosis ligada al cromosoma X; XO, xantina oxidasa. El efecto se indica con ↓: reducción; ↑: inducción; p-: estado fosforilado.

A pesar de que los mecanismos de acción precisos del RES aún están por elucidar, varios resultados *in vitro* e *in vivo* coinciden acerca de los mecanismos y/o dianas moleculares anticancerígenos. En este contexto, el RES puede inhibir el crecimiento tumoral de diferentes tejidos (próstata, piel, colon, hígado, etc.), evitar la proliferación celular debido a la detención del ciclo celular, principalmente en la fase G<sub>2</sub>/M (Carbó, *et al.*, 1999, Asensi, *et al.*, 2002), e inducir la apoptosis (Seeni, *et al.*, 2008, Ganapathy, *et al.*, 2010). En algunos estudios, de manera concordante con las observaciones *in vitro*, el tratamiento con RES causó una inducción de la apoptosis y de la detención del ciclo

## **Introducción General**

celular a través de un aumento de marcadores pro-apoptóticos y de células reguladoras del ciclo celular como Bax, caspasa-3, p38, ERK, así como una disminución de Bcl-2, c-fos, y c-jun y de las ciclinas B1 y D1 (Roy, *et al.*, 2009, Roy, *et al.*, 2011, Yuan, *et al.*, 2012). De igual modo, los efectos anticancerígenos del RES están relacionados con la modulación de rutas extrínsecas o intrínsecas de apoptosis tales como NF- $\kappa$ B, MAPK y PI3K-Akt (Wyke, *et al.*, 2004, Roy, *et al.*, 2009, Roy, *et al.*, 2011).

Otras dianas moleculares de la acción preventiva del RES, que han sido corroboradas en estudios con animales-modelo, están relacionadas con la inhibición de la metástasis y angiogénesis, a través de la inhibición de la expresión y/o actividad de MMP-2, -9 y EFGR2 (Banerjee, *et al.*, 2002, Lee, *et al.*, 2012). Estudios *in vivo* han indicado que el RES aumenta los efectos citotóxicos de varios agentes quimioterapéuticos como el 5-fluorouracilo (5-FU), paclitaxel, cisplatino y temozolomida (TMZ), igual que en los estudios *in vitro* (Lin, *et al.*, 2012, Yuan, *et al.*, 2012), y disminuyó o retrasó la carcinogénesis inducida por carcinógenos como doxorubicina, dietilnitrosamina, benzo[a]pireno, 1,2-dimetilhidrazina, 7,12-dimetilbenz[a]antraceno, N-nitrosometilbenzilamina y azoximetano (Tessitore, *et al.*, 2000, Banerjee, *et al.*, 2002, Roy, *et al.*, 2009).

El RES también actúa en varias facetas de las ECV, incluyendo hipertensión, lesiones de isquemia/reperfusión, fallo cardíaco y aterosclerosis a través de múltiples mecanismos que llevan a la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares. Las Tablas Suplementarias 6-8 resumen las evidencias recientes obtenidas a partir de investigaciones llevadas a cabo, *in vivo*, en diferentes modelos animales de ECV inducida. Un número de estudios donde se indujo el infarto de miocardio por cirugía o diabetes (por inyección de estreptozotocina (STZ) o dieta elevada en glucosa) demostraron que el RES contribuye a reducir el área infartada (**Tabla Suplementaria**

6). En ratas, el preconditionamiento con RES redujo significativamente el área del infarto (Saleh, *et al.*, 2010) y mejoró el infarto del miocardio (IM) inducido por oclusión de la arteria izquierda anterior (LAD) con un aumento de la función cardíaca, extensión de la supervivencia y proliferación celular, y la reducción del estrés oxidativo (Gurusamy, *et al.*, 2010). El RES redujo el área de infarto en IM inducido por diabetes tras tiempos de exposición de entre 5 y 15 días con dosis de 1 a 5 mg por kg de peso corporal (pc) del animal por día (dosis equivalente en humanos, HED, para una persona de 70 kg, con valores entre 11 y 56 mg de RES) (Lekli, *et al.*, 2007, Thirunavukkarasu, *et al.*, 2007, Huang, *et al.*, 2010) en un proceso posiblemente dependiente de NO (Thirunavukkarasu, *et al.*, 2007) y relacionado con la inducción de la expresión de eNOS en el corazón isquémico (Hung, *et al.*, 2004). Además, dosis de RES de 2,5 y 5 mg/kg pc/día durante 14 días mejoraron la recuperación ventricular pos-isquémica, y redujeron el área de IM y la apoptosis de cardiomiocitos, mientras que se ha descrito que dosis superiores a 25 mg/kg pc/día (HED  $\approx$  282 mg) deprimen la función cardíaca, aumentan el área de IM y el número de células apoptóticas (Dudley, *et al.*, 2009). La acción antiapoptótica del RES en cardiomiocitos puede involucrar la ruta SIRT1-FOXO1 (Chen, *et al.*, 2009). En modelos porcinos, una dosis farmacológica de 100 mg RES/kg pc/día (HED = 7 g) redujo la función inferolateral inducida por una dieta hipercolesterolémica (Robich, *et al.*, 2010), mientras que una dosis dietética, 437 veces más baja (0,23 mg/kg pc/día; HED = 16 mg) durante un año disminuyó la disrupción y alteración de las fibras aórticas elásticas, y redujo el engrosamiento de la pared vascular, la acumulación de depósitos grasos y de aniones superóxido ( $O_2^-$ ) en el tejido aórtico (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2012a).

Los efectos reductores del RES en la hipertensión se han descrito en varios estudios usando roedores como modelos *in vivo* (**Tabla Suplementaria 6**). Se ha

## **Introducción General**

observado una reducción en la presión sanguínea, en modelos de ratón (Delucchi, *et al.*, 2012) y de rata (Rivera, *et al.*, 2009, Biala, *et al.*, 2010, Bhatt, *et al.*, 2011, Chan, *et al.*, 2011), con un intervalo de dosis entre 1 y 800 mg RES/kg pc/día y tiempos de exposición de horas hasta 10 semanas. Por otro lado, algunos estudios en modelos de rata revelaron una ausencia de efecto en la presión sanguínea con dosis bajas de RES (2,5 mg/kg pc/día) (Behbahani, *et al.*, 2010, Thandapilly, *et al.*, 2010, Louis, *et al.*, 2012). Tras la exposición al RES, se encontró una reducción en las disfunciones cardíacas (Thandapilly, *et al.*, 2010, Louis, *et al.*, 2012), en el remodelado ventricular desfavorable (Csiszar, *et al.*, 2009, Delucchi, *et al.*, 2012) y en la contractilidad cardíaca (Chan, *et al.*, 2011, Paffett, *et al.*, 2012). La función ventricular izquierda mejoró en modelos murinos (Penumathsa, *et al.*, 2007, Lin, *et al.*, 2008) y porcinos (Al-Dissi & Weber, 2011). Además, estudios llevados a cabo en ratas mostraron una reducción en la hipertrofia cardíaca (Biala, *et al.*, 2010, Thandapilly, *et al.*, 2010) con 2,5 mg de RES/kg pc/día (HED  $\approx$  28 mg). Las propiedades antihipertensivas del RES encontradas en ratas se han asociado frecuentemente con la relajación vascular dependiente del endotelio (Bhatt, *et al.*, 2011, Akar, *et al.*, 2012), aumento en la actividad de la eNOS (Bhatt, *et al.*, 2011, Akar, *et al.*, 2012), e incremento en los niveles de NO (Bhatt, *et al.*, 2011) y glutatión (Bagul, *et al.*, 2012). Además, estudios en roedores han demostrado un incremento en la actividad de las enzimas GPx (Ramar, *et al.*, 2012), SOD y catalasa (Bagul, *et al.*, 2012, Franco, *et al.*, 2012), y una reducción en la actividad de la mieloperoxidasa (Alturfan, *et al.*, 2012). Hay que resaltar que una dosis baja de RES redujo la hipertrofia cardíaca sin afectar a la presión sanguínea (Behbahani, *et al.*, 2010, Thandapilly, *et al.*, 2010), lo cual sugiere que pueden estar asociados mecanismos alternativos a su efecto inhibitorio en la hipertrofia cardíaca. Por ejemplo, se ha propuesto que este efecto ocurra a través de la activación de AMPK y de la inhibición

de la ruta Akt (Chen, *et al.*, 2008).

Los niveles de lípidos circulantes tras la exposición al RES han sido analizados en varios estudios *in vivo* (**Tabla Suplementaria 7**). En ratones, se ha descrito una reducción del colesterol total, triglicéridos y ácidos grasos libres en modelos de adipogénesis inducida por una dieta alta en grasa (7-400 mg RES/kg pc/día durante 6-10 semanas, HED con valores desde 0.04 mg hasta más de 2 g) (Kim, *et al.*, 2011b, Do, *et al.*, 2012), mientras que en ratones deficientes en Apo E se ha visto una disminución de colesterol total y LDL colesterol (Do, *et al.*, 2008). En ratas, se observaron reducciones significativas en el colesterol total (intervalos de dosis de 10-45 mg RES/kg pc/día durante 6-8 semanas) (Rivera, *et al.*, 2009, Gómez-Zorita, *et al.*, 2012), LDL colesterol y triglicéridos (2.5-10 mg RES/kg pc/día durante 4-10 semanas), y un aumento en HDL colesterol (2,5-15 mg RES/kg pc/día durante 4-8 semanas) (Roghani & Baluchnejadmojarad, 2010, Louis, *et al.*, 2012). En modelos porcinos que consumieron 100 mg de RES/kg pc/día (HED = 7 g) durante 7 (Robich, *et al.*, 2010) y 11 semanas (Robich, *et al.*, 2011) se observó una disminución de colesterol total y LDL. Además, se observó una reducción del grado de esteatosis en ratones expuestos a 200 mg RES/kg pc/día (HED > 1 g) durante 20 semanas (Jeon, *et al.*, 2012) y en ratas 15-44 mg RES/kg pc/día durante 4-6 semanas (Bujanda, *et al.*, 2008, Franco, *et al.*, 2012, Gómez-Zorita, *et al.*, 2012). En ratas tratadas con una dosis de 10 (Rivera, *et al.*, 2009) y 100 mg RES/kg pc/día (Shang, *et al.*, 2008) (HED = 113 mg y 1 g, respectivamente) durante 8-10 semanas se verificó una reducción de las grasa abdominal. En modelos de ratón (Lagouge, *et al.*, 2006) y lémur (Dal-Pan, *et al.*, 2010), la administración de niveles altos de RES (> 200 mg RES/kg pc/día, HED > 1 g) disminuyó el aumento de peso causado por una dieta rica en grasa, mientras que dosis < 60 mg RES/kg pc/día (HED < 340 mg) no afectaron el peso corporal (Baur, *et al.*, 2006, Rivera, *et al.*, 2009).

## **Introducción General**

En la mayoría de los estudios *in vivo* donde la sensibilidad a la insulina disminuyó (como consecuencia de la administración de dietas altas en grasa o diabetes inducida por STZ), el RES bajó los niveles de glucosa y/o de insulina y/o mejoró la sensibilidad a la insulina independientemente de la dosis y tiempo de exposición testados, particularmente en roedores (Baur, *et al.*, 2006, Lagouge, *et al.*, 2006, Shang, *et al.*, 2008, Jeon, *et al.*, 2012) (**Tabla Suplementaria 7**). En un estudio en ratones, el AMPK pareció ser necesario para el efecto de mejora en la sensibilidad a la insulina (Um, *et al.*, 2010). En lémures también se encontraron niveles más bajos de glucosa y un aumento en la sensibilidad a la insulina tras 33 meses con 200 mg de RES/kg pc/día (Marchal, *et al.*, 2012). En un modelo porcino, 100 mg RES/kg pc/día durante 11 semanas (Robich, *et al.*, 2011) mejoraron la sensibilidad a la insulina y, en conejos, se redujeron los niveles de insulina tras 10 semanas de tratamiento (1,5 y 17 mg RES/kg pc/día, HED = 34 y 384 mg, respectivamente), a pesar de que los niveles de glucosa no fueron afectados (Akar, *et al.*, 2011). En ratones, la tasa metabólica incrementó tras el tratamiento con 400 mg de RES/kg pc/día (HED > 2 g) durante 12 semanas (Um, *et al.*, 2010) y, en ratas, la disfunción metabólica mejoró con dosis desde 1 a 50 mg RES/kg pc/día (HED desde 11 hasta 560 mg) y tiempos de exposición desde 5 días hasta 15 semanas (Deng, *et al.*, 2008, Planavila, *et al.*, 2011).

Se ha demostrado que el RES modula la inflamación, o al menos influye en los niveles de varios marcadores involucrados en la respuesta inflamatoria. En roedores se han descrito cambios significativos en el nivel de estos marcadores debido al tratamiento con RES, con dosis variando de 1 mg hasta más de 1 g RES/kg pc/día (HED desde 11 mg hasta > 5 g) y tiempos de exposición de pocos días hasta 30 semanas (**Tabla Suplementaria 8**). Con pocas excepciones, el RES revertió el aumento en los niveles de citoquinas inflamatorias importantes y otros marcadores relacionados con la

inflamación en varios modelos inducidos con enfermedades (obesidad, hipertensión, diabetes y colitis) y exposición a carcinógenos, entre otros. En general, el tratamiento con RES redujo los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1, COX-2 e iNOS (Kumar, *et al.*, 2006, Norata, *et al.*, 2007, Singh, *et al.*, 2007, Bujanda, *et al.*, 2008, Hong, *et al.*, 2010, Sanchez-Fidalgo, *et al.*, 2010, Singh, *et al.*, 2010). Además, la exposición al RES disminuyó la actividad de células T y B, y macrófagos, a través de una inhibición significativa de su proliferación, producción de anticuerpos, y de secreción de linfoquinas (Larrosa, *et al.*, 2009, Lee, *et al.*, 2009, Jeon, *et al.*, 2012). Además, el RES inhibió el NF- $\kappa$ B, y varios marcadores de inflamación relacionados con este factor (Kumar, *et al.*, 2006, Martin, *et al.*, 2006, Ramar, *et al.*, 2012).

Las enfermedades neurodegenerativas son un grupo de problemas progresivos cuyo origen no es conocido del todo, pero que se caracterizan por un estado inflamatorio común y niveles de ROS aumentados, lo cual produce principalmente la pérdida de la función normal de las neuronas y también la muerte neuronal. Las acciones de amplio espectro ejercidas por el RES, resultantes de la modulación de un número de redes señalizadoras y mecanismos celulares relacionados con inflamación, estatus oxidativo y apoptosis, hacen que este polifenol sea un candidato para tratar y/o prevenir las enfermedades neurodegenerativas (Foti Cuzzola, *et al.*, 2011) (**Tabla Suplementaria 9**).

Si las dosis necesarias para que el RES ejerza sus efectos *in vivo* son algo más bajas que las usadas *in vitro* o si esta molécula puede tener un efecto en el sistema nervioso central a través del sistema nervioso entérico es algo que todavía se desconoce. En modelos de enfermedad neurodegenerativa (Alzheimer, Parkinson y Huntington) el RES mejora el daño patológico de las neuronas, aumentando la supervivencia celular a través de la inhibición de la apoptosis, inflamación y estrés oxidativo y, de este modo,



## Introducción General

mejorando la disfunción cognitiva y la reducción en la función motora que acompaña estas enfermedades (Kumar, *et al.*, 2006, Hong, *et al.*, 2010). Los posibles mecanismos responsables para esta neuroprotección parecen involucrar la regulación de HO-1 y coactivador 1 alfa del receptor gamma del peroxisoma activado por proliferadores (PGC- $\alpha$ ), la sobreexpresión de Nrf-2 o la activación de la ruta SIRT1-proteína desacopladora 2 (Mudò, *et al.*, 2012, Srivastava, *et al.*, 2012).

La extensión del tiempo de vida es uno de los efectos más fascinantes atribuidos al RES (**Tabla Suplementaria 10**). Como se ha comentado anteriormente, en 2003, Howitz y colaboradores (Howitz, *et al.*, 2003) demostraron que el RES era capaz de extender el tiempo de vida de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* un 70% a través de la activación de la SIRT1. Poco después, algunos estudios realizados en el nematodo *Caenorhabditis elegans*, en la mosca *Drosophila melanogaster* y en el pez *Nothobranchius furzeri* demostraron que el RES extendía el tiempo de vida medio y máximo a través de la modulación de SIRT1 (Wood, *et al.*, 2004, Valenzano, *et al.*, 2006). En modelos murinos, a los que se administró RES juntamente con una dieta alta en grasa, se observó una reducción en la mortalidad (31%) (Baur, *et al.*, 2006). Asimismo, el RES mimetizó la extensión del tiempo de vida ejercido por la restricción calórica a través del incremento de la supervivencia celular y de la calidad de vida (función motora, sensibilidad a la insulina, reducción en la patología de órganos) probablemente por la inducción de la ruta PGC-1 $\alpha$ -SIRT1 (Wood, *et al.*, 2004, Baur, *et al.*, 2006, Lagouge, *et al.*, 2006, Valenzano, *et al.*, 2006). A pesar de que existe una cantidad considerable de resultados que apoyan el papel del RES en la extensión del tiempo de vida mediado por la SIRT1 hay alguna controversia acerca de este efecto. Algunos estudios no han encontrado efecto en la supervivencia o actividad locomotora en ratones (Strong, *et al.*, 2012), o que el efecto depende del sexo (moscas)

(Chandrashekara & Shakarad, 2011, Wang, *et al.*, 2013). Sin embargo, el RES mejoró los síntomas de enfermedades crónicas relacionadas con el envejecimiento en animales modelo y podría ser un buen candidato para disminuir los procesos crónico-degenerativos asociados al paso del tiempo y que caracterizan al envejecimiento en personas.

En conclusión, el creciente número de estudios preclínicos siguen aportando resultados alentadores con respecto a las propiedades beneficiosas del RES frente al cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, y retraso en el envejecimiento (**Figura 1.16**). Algunas de estas propiedades han sido observadas con dosis dietéticas, y frecuentemente se verifica una corroboración entre datos obtenidos *in vitro* e *in vivo*; sin embargo, son necesarios más estudios para aclarar la variabilidad encontrada en las acciones del RES, por ejemplo, respecto a su comportamiento hormético (efectos beneficiosos o perjudiciales en función de la dosis y del tiempo de exposición). A pesar de que se han hecho avances esperanzadores de cara a alcanzar el objetivo final de confirmar el RES como una molécula beneficiosa y segura para el ser humano, el test crucial a través de ensayos clínicos solamente empieza ahora a aportar resultados.

#### **1.1.8.4.2. Estudios de intervención en personas**

A pesar de que se hayan realizado abundantes estudio preclínicos en animales modelo, sobretodo en roedores, las investigaciones con respecto a la seguridad y efectos benéficos del RES en humanos es escasa (Vang, *et al.*, 2011). Existen muchas revisiones y artículos de “perspectiva” acerca del RES, pero la evidencia clínica humana es limitada (Patel, *et al.*, 2011, Vang, *et al.*, 2011, Li & Förstermann, 2012, Smoliga, *et al.*, 2012, Wang, *et al.*, 2012). En realidad, la mayoría de la investigación relacionada

## **Introducción General**

con el RES en humanos tiene que ver con su farmacocinética y metabolismo. En este sentido, hemos diferenciado los estudios relacionados con la evaluación de parámetros farmacocinéticos y perfiles metabólicos, con aquellos ensayos clínicos aleatorios, orientados a la evaluación de efectos.

### **1.1.8.4.2.1. Farmacocinética y metabolismo**

En este apartado se resalta la información más relevante relativa al conocimiento actual acerca de la farmacocinética y metabolismo del RES en humanos, pero una información más detallada puede encontrarse en revisiones recientes (Chachay, *et al.*, 2011, Patel, *et al.*, 2011, Walle, 2011, Smoliga, *et al.*, 2012, Timmers, *et al.*, 2012) o en las referencias específicas citadas (**Tabla 1.3**).

En humanos, el RES se absorbe, metaboliza y excreta de manera rápida y eficaz, resultando una biodisponibilidad relativamente baja (Walle, *et al.*, 2004). La primera evaluación de la absorción del RES en humanos fue llevada a cabo por Goldberg y colaboradores (Goldberg, *et al.*, 2003), el cual también exploró el efecto de diferentes matrices alimentarias en la biodisponibilidad de esta molécula. Inicialmente, los estudios se enfocaban en el análisis del contenido de RES total a través del tratamiento de muestras de plasma y orina con glucuronidasas/sulfatasas (debido a la falta de estándares de metabolitos derivados de fase II para una adecuada identificación y cuantificación). Con el paso del tiempo, el conocimiento acerca de este tema se ha incrementado sustancialmente y ya se han descrito cerca de 20 metabolitos derivados del RES en plasma, orina y algunos tejidos, de acuerdo con diferentes estudios en animales (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011) y humanos (Burkon & Somoza, 2008, Rotches-Ribalta, *et al.*, 2012). Dentro de estos metabolitos están las formas *trans*- y/o *cis*- de mono- y diglucurónidos, mono- y disulfatos y sulfoglucurónidos de RES, así como,

conjugaciones equivalentes del metabolito derivado de la microbiota dihidroresveratrol (DHRES). La posible importancia de este último ya había sido resaltada por Walle *et al.* y fue confirmada en animales (Alfaras, *et al.*, 2010, Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011) y humanos (Rotches-Ribalta, *et al.*, 2012). La actividad de cualquier metabolito específico circulante del RES está aún en debate, y en el caso del DHRES, este desconocimiento es aún mayor (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2012b). Con respecto a este tema, Bode y colaboradores (Bode, *et al.*, 2013) intentaron elucidar las diferencias interindividuales en el metabolismo de RES realizado por la microbiota intestinal e identificar cepas bacterianas involucradas en el proceso. Esta investigación reciente identificó nuevos metabolitos de RES derivados de la microbiota usando experimentos de fermentación *in vitro* con muestras fecales de 7 voluntarios sanos. Además se realizó un estudio de intervención controlada con 12 individuos sanos que consumieron RES. Después de un período de lavado, todos los sujetos recibieron una dosis oral única de 0,5 mg de RES/kg de peso corporal en la forma de un suplemento de brotes de vid, y se analizaron muestras de orina recolectadas 24 horas tras la ingesta. A parte de DHRES, se identificaron, *in vitro* e *in vivo*, 2 metabolitos bacterianos del RES desconocidos hasta la fecha: 3,4'-dihidroxi-*trans*-estilbeno y 3,4'-dihidroxibibenzil (lunularina). Además, se identificaron 2 cepas bacterianas como productoras de DHRES: *Slackia equolifaciens* y *Adlercreutzia equolifaciens*. Sin embargo, no se han podido identificar las bacterias intestinales capaces de producir las des-hidroxilaciones. Los autores concluyen que el metabolismo del RES efectuado por la microbiota intestinal humana demuestra diferencias interindividuales pronunciadas, lo cual debería ser tomado en cuenta durante las investigaciones focalizadas en los efectos para la salud de este estilbeno.

La biodisponibilidad del RES demuestra una alta variabilidad interindividual, a

## **Introducción General**

pesar de que no se hayan encontrado efectos remarcables según el sexo o la edad (Nunes, *et al.*, 2009). La concentración en plasma de metabolitos de fase II es considerablemente más alta que la encontrada para la forma aglicona. La concentración más elevada  $C_{\max}$  (967 ng/mL, aproximadamente 4,2  $\mu\text{M}$ ) fue descrita por Brown y colaboradores (Brown, *et al.*, 2010) tras la ingesta de 5 g de RES micronizado en comparación con la obtenida tras la ingesta de RES estándar (539 ng/mL, aproximadamente 2,3  $\mu\text{M}$ ) (Boocock, *et al.*, 2007a, Boocock, *et al.*, 2007b). El metabolito circulante de RES más abundante en humanos es el RES-3-*O*-sulfato (la  $C_{\max}$  máxima descrita fue aproximadamente 18  $\mu\text{M}$ , coincidiendo con la concentración encontrada tras la ingesta de 5 g de RES micronizado y de RES estándar (Boocock, *et al.*, 2007b, Brown, *et al.*, 2010). Por el contrario, el metabolito circulante más abundante en ratas y cerdos es el RES-3-*O*-glucurónido (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2010).

Otro tópico interesante es la posible influencia de la matriz alimentaria en la biodisponibilidad del RES. La principal observación es que formulaciones líquidas conteniendo RES (tanto añadido como endógeno), como el zumo de uva, zumos de vegetales, vino (blanco, tinto, cava), presentaron absorciones similares. La absorción del RES se retrasa cuando se consume en cápsulas, aunque permanece más tiempo en el organismo y da origen a más metabolitos derivados del DHRES (Rotches-Ribalta, *et al.*, 2012). Se ha descrito que la comida retrasa la absorción del RES, pero no bajan los valores AUC en el plasma (Vaz-da-Silva, *et al.*, 2008), mientras que alimentos ricos en grasa o retrasaron la absorción de RES (la Porte, *et al.*, 2010) o no ejercieron un efecto significativo en su biodisponibilidad, independientemente del contenido lipídico (Vitaglione, *et al.*, 2005). Ni el alcohol ni la quercetina se ha descrito que afecten a la biodisponibilidad del RES en personas (la Porte, *et al.*, 2010).

Patel y colaboradores (Patel, *et al.*, 2010) describieron por primera vez la

detección de RES y sus derivados metabólicos en tejidos humanos. El RES y 5 derivados metabólicos (3-*O*-glucurónido, 4'-*O*-glucurónido, sulfoglucurónido, 3-*O*-sulfato and 4'-*O*-sulfato) fueron identificados en muestras de tejido colónico normales (proximal o distal al tumor) y tumorales obtenidos a partir del lado derecho o izquierdo del tumor. Se encontró una alta variabilidad en el contenido de RES y sus derivados metabólicos dependiendo de la dosis, tipo de tejido (normal o tumoral), y localización (proximal o distal al tumor en muestras normales, y de ambos lados en tejidos normales o tumorales). Tanto el RES aglicona como sus metabolitos fueron principalmente detectados en los tejidos colorrectales del lado derecho (las heces son más líquidas en el lado derecho del colon e interactúan antes con esta parte del intestino (Hebden, *et al.*, 1999). Tras la administración de dosis de 0,5 y 1 g, se encontraron, respectivamente, concentraciones medias máximas de RES de 18,6 y 674 nmol/g en tejido normal (proximal al tumor). En lo que respecta a tejidos tumorales, las concentraciones medias encontradas fueron de 8,3 y 94 nmol/g, respectivamente. En el caso de metabolitos, se cuantificaron, en el tejido normal proximal al tumor, 86 nmol/g de RES-3-*O*-glucurónido con una dosis de 0,5 g y 67,2 nmol/g de RES-3-*O*-sulfato con 1 g, ambos casos en el lado derecho. En relación a los metabolitos y tejidos tumorales, la concentración más alta fue encontrada para el RES-sulfoglucurónido (29 ng/mol), en el lado derecho. El principal metabolito del plasma fue el conjugado sulfoglucurónido con una concentración alrededor de 40 veces más elevada que la encontrada para el RES-3-*O*-sulfato (Patel, *et al.*, 2010). No se dieron explicaciones para estos resultados, pero puede que esto se deba a la sobreexpresión de enzimas de fase II (glucuronil- y sulfatotransferasas) en el cáncer de colon (Sheweita & Tilmisany, 2003). La presencia de DHRES no fue explorada en este estudio, a pesar de que se pretendía evaluar la disposición del RES y derivados metabólicos en el tejido del colon. El DHRES ha sido

## **Introducción General**

descrito como el metabolito derivado del RES más abundante en el colon de ratas (Alfaras, *et al.*, 2010) y cerdos (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011). Existe una creciente evidencia relacionada con el potencial del RES como molécula quimiopreventiva del cáncer (Juan, *et al.*, 2005), sin embargo, poco se sabe acerca de la relevancia biológica del DHRES (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2012b).

Howells *et al.* (2011) publicaron por primera vez la capacidad del RES micronizado de alcanzar órganos distantes tales como el hígado, lo cual se demostró en 3 pacientes de cáncer colorrectal con metástasis hepática (Howells, *et al.*, 2011). El RES fue detectado en tejido hepático tras la administración diaria de 5 g durante aproximadamente 14 días, pero no se indicó el perfil metabólico hepático.

### **1.1.8.4.2.2. Ensayos clínicos aleatorios**

A continuación, se hace una revisión de los ensayos clínicos en humanos disponibles en 3 bases de datos principales (*PubMed*, *Thomson Reuters Web of Knowledge<sup>SM</sup>* y *Scopus*) en relación con RES o productos que contienen este polifenol. También se han incluido aquellos estudios donde se han evaluado los efectos, pero no se especificó si hubo una la distribución aleatoria de los voluntarios en los diferentes grupos del estudio, y estudios que consistieron en un único grupo, con el objetivo de evaluar cambios post-tratamiento sin comparaciones con otros compuestos o productos.

En esta sección se describen las características principales, objetivos, resultados, puntos fuertes y limitaciones y, en algunos casos, estudios futuros posibles. Se ha dividido la sección en dos: ensayos con pacientes medicados (en riesgo o con enfermedad establecida), y ensayos con sujetos no-medicados (tanto sanos como en riesgo de enfermedad).

**Tabla 1.3.** Principales estudios en humanos relacionados con la farmacocinética, metabolismo y disponibilidad del resveratrol (RES).

<b>Formulación y dosis de RES</b>	<b>Voluntarios y tamaño muestral (n)</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
Ingesta única de 25 mg/kg de RES disueltos en vino blanco, zumo de uva o zumo de vegetales.	Hombres sanos (n=12).	La absorción de RES fue aproximadamente equivalente en las tres matrices.	(Goldberg, <i>et al.</i> , 2003)
Ingesta única de 0,03, 0,5 o 1 mg/kg de RES en whisky:agua (5 mL:50 mL), y 0,32, 0,64, 0,96 o 1.92 mg RES en zumo de uva (200, 400, 600 o 1200 mL).	Hombres sanos (n=3).	Perfil farmacocinético, urinario y plasmático. Absorción de RES-glucósido es más baja que la de RES. Absorción relativa de RES similar en todas las matrices.	(Meng, <i>et al.</i> , 2004)
Ingesta única oral (25 mg) e intravenosa (1.5 mg) de <sup>14</sup> C-RES.	Mujeres (n=3) y hombres (n=3) sanos.	Perfil metabólico y farmacocinético. Alta absorción pero muy baja biodisponibilidad. DHRES puede ser un metabolito derivado del RES relevante.	(Walle, 2011)
Ingesta única (250 mL) de vino tinto conteniendo 0,4 mg de <i>trans</i> -RES y 0,4 mg de <i>cis</i> -RES).	Hombres sanos (n=11).	Detección de RES y algunos metabolitos en partículas LDL.	(Urpí-Sardà, <i>et al.</i> , 2005)
Tres abordajes dietéticos: Ingesta única de 300 o 600 mL de vino tinto después de ayunas, una comida estándar o con diferentes cargas lipídicas (RES total de 0,25 mg a 1.9 mg).	Mujeres (n=11) y hombres (n=14) sanos.	Perfil metabólico y farmacocinético. Ni alimento ni contenido lipídico influyeron en la biodisponibilidad de RES.	(Vitaglione, <i>et al.</i> , 2005)
Consumición diaria de 300 mL de vino espumoso (0.36 mg de RES), 200 mL de vino blanco (0,4 mg RES) o 200 mL vino tinto (2,6 mg RES) durante 28 días.	Mujeres (n=10) y hombres (n=10) sanos.	Los metabolitos totales de RES aumentaron con la creciente ingesta de RES. Estos metabolitos pueden ser usados como biomarcadores de ingesta de vino.	(Zamora-Ros, <i>et al.</i> , 2006)
Ingesta única de 1 g RES (cápsula).	Adulto (género no especificado) (n=1).	Perfil metabólico y plasmático.	(Boocock, <i>et al.</i> , 2007a)



## **Introducción General**

73	Ingesta única de 0,5, 1, 2,5 y 5 g RES (cápsulas).	Hombres (n=18) y mujeres (n=22) sanos.	Perfil metabólico y farmacocinético. La concentración más alta de RES ingerida por humanos. Sin efectos adversos tras la ingesta única.	(Boocock, <i>et al.</i> , 2007b)
	Ingesta única de 500 mL de leche baja en grasa conteniendo RES previamente disuelto en una solución hidroalcohólica. Dosis de RES: 85,5 mg/70 kg.	Hombres sanos (n=9).	Perfil metabólico y farmacocinético. Se describen nuevos metabolitos RES-C/O-glucurónido. Alta afinidad para proteínas plasmáticas.	(Burkon & Somoza, 2008)
	Ingesta única de 300 mL vino blanco (75 mg fenólicos) o vino tinto (540 mg fenólicos) durante 15 días.	Mujeres (n=11) y hombres (n=9) sanos.	Concentración plasmática de RES aumentó de 0,72 mM para el vino blanco hasta 1,33 mM para el tinto.	(Gresele, <i>et al.</i> , 2008)
	Ingesta única de 0,4 g de RES seguidos de una comida rica en grasa estándar o 8 h de ayunas.	Individuos sanos (n=24).	La absorción de RES fue retrasada por la comida ( $T_{max}$ fue 4 veces más alta que en ayunas). Sin embargo los valores de AUC fueron similares.	(Vaz-da-Silva, <i>et al.</i> , 2008)
	Seis ingestas diarias de cápsulas de RES (25, 50, 100 o 150 mg) en intervalos de 4 h durante 13 días.	Hombres (n=20) y mujeres (n=20) sanos.	Los valores de AUC no fueron directamente proporcionales a la ingesta de RES. Alta variabilidad interindividual. Biodisponibilidad fue más alta tras la administración matinal.	(Almeida, <i>et al.</i> , 2009)
	Ingesta de múltiples cápsulas de RES (0,2 g) en intervalos de 8h durante 3 días.	Mujeres sanas jóvenes (n=6) y ancianas (n=6); hombres sanos jóvenes (n=6) y ancianos (n=6).	Perfil metabólico y farmacocinético. No se observaron diferencias dependientes del género o edad.	(Nunes, <i>et al.</i> , 2009)
	Ingesta única de 250 mL vino tinto, 10 pastillas o 1 L de zumo de uva. Dosis media de RES: 0,014 mg/kg.	Hombres sanos (n=11).	La biodisponibilidad a partir del vino o zumo fue 6 veces más alta que a partir de las pastillas.	(Ortuño, <i>et al.</i> , 2010)

**Tabla 1.3 (cont.).** Principales estudios en humanos relacionados con la farmacocinética, metabolismo y disponibilidad del resveratrol (RES).

<b>Formulación y dosis de RES</b>	<b>Voluntarios y tamaño muestral (n)</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
Ingesta dos veces al día de 2 g de RES con un desayuno estándar, un desayuno rico en grasa, 500 mg quercetina dos veces al día y 100 mL alcohol 5%.	Mujeres (n=5) y hombres (n=3) sanos.	Farmacocinética de 12 horas en el estado de equilibrio (estado estacionario) de RES. El desayuno rico en grasa retrasó la absorción. La quercetina y el alcohol no influenciaron las concentraciones plasmáticas de RES.	(la Porte, <i>et al.</i> , 2010)
Ingesta diaria de cápsulas conteniendo 0,5, 1, 2,5 o 5 g de RES micronizado durante 29 días.	Mujeres (n=18) y hombres (n=22) sanos.	El RES micronizado aumentó la C <sub>max</sub> plasmática de RES y derivados metabólicos en comparación con valores publicados para el RES estándar.	(Brown, <i>et al.</i> , 2010)
Ingesta diaria de cápsulas conteniendo 0,5 g o 1 g de RES micronizado durante 8 días.	Pacientes con cáncer del colon: hombres (n=9) y mujeres (n=11).	RES y 4 derivados glucurónido y sulfato fueron cuantificados en tejidos del colon. Se detectaron niveles más altos en el lado derecho del colon.	(Patel, <i>et al.</i> , 2010)
Ingesta única de 375 mL de vino tinto (6,3 mg de RES total como aglicona y glucósido en las formas <i>trans</i> - y <i>cis</i> -) o 10 cápsulas conteniendo extracto de uva (contenido total de RES: 4,7 mg).	Hombres sanos (n=10).	Se identificaron 17 metabolitos derivados del RES. El RES en el zumo de uva presentó una absorción retrasada en comparación con el vino tinto y permaneció más tiempo en el organismo, resultando en más metabolitos derivados del DHRES que en el caso del vino tinto.	(Rotches-Ribalta, <i>et al.</i> , 2012)
Ingesta única de 0,5 mg RES/kg de peso corporal en la forma de un suplemento de brotes de vid.	Voluntarios sanos (n=12)	Se identificaron 2 nuevos derivados metabólicos del RES: 3,4'-dihidroxi- <i>trans</i> -estilbeno y 3,4'-dihidroxibenzil. El metabolismo del RES realizado por la microbiota humana presentó grandes diferencias interindividuales.	(Bode, <i>et al.</i> , 2013)

## **Introducción General**

### **1.1.8.4.2.2.1. Voluntarios bajo medicación (en riesgo o con enfermedad establecida)**

El primer estudio publicado en humanos, sobre RES y cáncer, fue llevado a cabo por Nguyen *et al.* (Nguyen, *et al.*, 2009) (**Tabla 1.4**). Los autores realizaron un ensayo piloto de 4 brazos para evaluar los efectos de diferentes preparaciones de plantas en pacientes con cáncer de colon. Dos pacientes ingirieron 20 mg de extracto de *Polygonum cuspidatum* (conteniendo 3,9 mg de RES) más 120 mg de quercetina; 1 paciente ingirió 80 mg de extracto de *P. cuspidatum* (conteniendo 15,5 mg de RES) más 480 mg de quercetina; 3 pacientes consumieron 80 g de extracto de uva (conteniendo 0,07 mg de RES) y 2 pacientes ingirieron 120 g de extracto de uva conteniendo 0,11 mg de RES. Los pacientes consumieron estas preparaciones diariamente durante 14 días (desde el diagnóstico del cáncer hasta la cirugía). Antes y después de la ingesta de los productos del estudio, la mucosa del colon normal y tejidos de colon cancerosos se analizaron por *microarray* y RT-PCR específicos para la ruta Wnt. Los efectos más significativos se obtuvieron tras la ingesta de 80 g de extracto de uva en la mucosa del colon normal. La expresión de CD133 y LGR5, marcadores del cáncer de colon y células embrionarias del colon (Sanders & Majumdar, 2011), y genes diana Wnt (igualmente importantes en el cancel colorrectal (Saif & Chu, 2010) disminuyeron en la mucosa normal. Sin embargo, no se encontraron efectos en el tejido canceroso del colon. No se observó ningún efecto con el resto de productos del estudio, incluyendo aquellos con dosis más elevadas de RES más quercetina. Los autores sugirieron que las asociaciones de diferentes fenólicos como ocurre en las uvas podían explicar los resultados obtenidos. El constituyente específico responsable por los efectos no fue identificado, pero la contribución del RES en dichos efectos pareció insignificante de acuerdo con su baja dosis frente al resto de polifenoles. Otra limitación del estudio fue que otros compuestos de la dieta podrían ejercer efectos una vez que no se hicieron

restricciones dietéticas durante el ensayo. El pequeño tamaño muestral y los posibles efectos de confusión de la medicación también limitaron las conclusiones alcanzadas.

Como se ha mencionado antes, Patel *et al.* (Patel, *et al.*, 2010) describieron la detección de RES y sus derivados metabólicos en tejido del colon humano. El ensayo fue ciego para los análisis, con dos brazos paralelos, no aleatorio y no controlado por placebo. Veinte pacientes con cáncer colorrectal consumieron diariamente 0,5 g (n=10) o 1 g (n=10) de RES micronizado durante los 8 días anteriores a la cirugía. El principal objetivo de este estudio fue la caracterización del perfil metabólico del RES en tejidos del colon tras la cirugía. Sin embargo, se ha incluido este estudio en esta sección por que los autores también investigaron el efecto de la administración de RES en el marcador de proliferación Ki-67 (comúnmente usado como un marcador de proliferación celular). Se encontró alta variabilidad y una reducción al borde de la significancia de 5% frente a los valores basales cuando los resultados se analizaron colectivamente (n=20). Cuando el análisis se hizo con las dosis de RES por separado (0,5 y 1 g) no se obtuvieron diferencias significativas.

En el estudio llevado a cabo por Howells *et al.* (Howells, *et al.*, 2011), 6 pacientes consumieron diariamente RES (5 g, n=3) o placebo (n=3) durante un periodo mínimo de 10 y un máximo de 21 días antes de la cirugía. Se detectó RES en el tejido hepático y, de forma interesante, el marcador de apoptosis caspasa-3 aumentó un 39% en el tejido hepático maligno de pacientes que consumieron esta molécula. No se observaron efectos en los niveles de PGE<sub>2</sub> y VEGF. Además, en los tejidos hepáticos no se verificaron efectos en los niveles de marcadores relacionados con el cáncer bien conocidos, tales como IGF-1, Ki-67, fosfo-Akt, Akt1, fosfo-GSK3, GSK3, fosfo-ERK, ERK, fosfo-JNK, JNK,  $\beta$ -catenina, survivina, Bcl-2, Bax o Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP). A pesar de que la ingesta diaria de 5 g de RES durante 14 días fue

## **Introducción General**

bien tolerada por los pacientes, todavía persiste la preocupación sobre de los posibles efectos adversos con tan altas concentraciones, especialmente en tiempos de exposición más largos y con tratamientos médicos habituales para este tipos de pacientes. Se verificó una biodisponibilidad más elevada para el RES usando una formulación micronizada específica; sin embargo, teniendo en cuenta la alta variabilidad interindividual en la biodisponibilidad del RES, esta comparación se hizo con resultados previamente publicados y no se hizo una comparación directa con RES estándar en el mismo ensayo.

La actividad quimiopreventiva frente a cáncer y el posible papel en la protección cardiovascular representan los beneficios para la salud del RES con mayor potencial. En este contexto, el primer ensayo clínico encontrado en humanos, en relación a RES y cardioprotección, fue conducido por Brasnyo y colaboradores (Brasnyó, *et al.*, 2011) en varones con diabetes de tipo 2. El ensayo fue aleatorio, doble-ciego, controlado por placebo y con 2 brazos paralelos. Diariamente, los pacientes consumieron cápsulas conteniendo RES (10 mg, n=10) o placebo (n=9) durante 1 mes. Así que este estudio unió dos características importantes: la primera evaluación de los efectos cardioprotectores en humanos y el uso de dosis de RES alcanzables con suplementos dietéticos. El principal objetivo fue evaluar el efecto en la sensibilidad a la insulina y explorar el posible mecanismo correspondiente. De un modo general, el RES mejoró la resistencia a la insulina, disminuyó los niveles de glucosa y retrasó la aparición de picos de glucosa tras una comida de prueba. Estos efectos estaban correlacionados con una disminución del estrés oxidativo, medido como *orto*-tirosina urinaria, excreción de creatinina, juntamente con un aumento de la fosforilación de la Akt en plaquetas, una vez que esta activación es una etapa bien conocida de la señalización de la insulina (Avogaro, *et al.*, 2002). Sin embargo, el tamaño muestral (n=19) y el tiempo de

seguimiento (1 mes) fueron cortos para la baja dosis de RES testada. Por otro lado, marcadores como la hemoglobina glicada (HbA1c) y la hsCRP, entre otros, fueron medidos antes de empezar el tratamiento pero no se incluyeron datos relativos a la post-intervención. Además, los posibles efectos en el perfil serobioquímico y hematológico de los pacientes no fueron explorados. A pesar de que los pacientes fueron instruidos a abstenerse de ingerir bebidas alcohólicas y posibles alimentos conteniendo RES, los pacientes no anotaron esos posibles consumos y la influencia de la dieta individual en los resultados no puede descartarse, sobre todo en ensayos de corta duración.

Fujitaka *et al.* (Fujitaka, *et al.*, 2011) evaluaron el efecto del RES en la función endotelial de 34 pacientes con síndrome metabólico. El ensayo fue aleatorio, cruzado, abierto y no controlado por placebo. Los pacientes consumieron RES durante 3 meses y después interrumpieron el consumo por igual periodo de tiempo, es decir, el grupo A (n=17) ingirió 100 mg RES por día durante los primeros 3 meses, mientras que en los 3 meses siguientes no lo hizo. El patrón inverso fue seguido por el grupo B (n=17). En ambos grupos, la dilatación mediada por flujo (FMD), un procedimiento para medir la función endotelial, aumentó aproximadamente del 4% al 9% y volvió a los valores basales tras la interrupción del tratamiento con RES. No se observaron efectos en la presión sanguínea ni en algunos marcadores inflamatorios (hsCRP e IL-6) y aterogénicos (perfil lipídico del suero y otros). La función endotelial fue medida tras el ayuno nocturno y el perfil metabólico del plasma no fue evaluado. De este modo, el posible papel directo (si existe) de los metabolitos circulantes en la mejora de la FMD queda sin respuesta. Una limitación de este estudio es que la medicación específica en cada grupo no fue detallada y no se han considerado covariables en el análisis estadístico. Además, el perfil hematológico y las funciones hepáticas, renales y tiroideas no se evaluaron a través de la medición de variables serobioquímicas.

## **Introducción General**

Bhatt *et al.* (Bhatt, *et al.*, 2012) llevaron a cabo un ensayo aleatorio, de 2 brazos paralelos, abierto y sin control por placebo. Individuos con diabetes del tipo 2 ingirieron diariamente fármacos hipoglucémicos más 250 mg RES (n=28) o solamente fármacos hipoglucémicos (grupo control, n=29), durante 3 meses. En el grupo que consumió RES, los principales resultados fueron la disminución de la presión sanguínea (-8,4%), hemoglobina glicada HbA<sub>1c</sub> (-5%) y colesterol total (-8,5%). Al final del ensayo, se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo RES y el control para la glucosa circulante en ayunas, HbA<sub>1c</sub>, presiones sanguíneas sistólica y diastólica, colesterol total, triglicéridos, LDLc, nitrógeno de urea, creatinina, y niveles de proteína total. No se usaron covariables en el análisis estadístico. La proporción de varones/mujeres no fue homogénea y posibles efectos dependientes del sexo no pueden descartarse. Se evaluó parcialmente la seguridad del ensayo (creatinina, urea y proteínas totales).

Magyar *et al.* (Magyar, *et al.*, 2012) realizaron recientemente un ensayo aleatorio, con 2 brazos paralelos, controlado por placebo y doble-ciego, en el cual 40 pacientes con EAC (26 varones y 14 mujeres) fueron seguidos durante 3 meses. Un grupo (n=20) ingirió 10 mg RES y el otro (n=20) tomó placebo, ambos diariamente. El consumo de RES mejoró un número de marcadores y características en pacientes con enfermedad arterial coronaria, tales como LDLc (disminución de 8%) y las funciones endotelial (aproximadamente 2% a 4,5%) y diastólica del ventrículo izquierdo (2%), y también aportó protección contra algunos cambios hemorreológicos desfavorables. Tras 3 meses de tratamiento, marcadores inflamatorios como la CRP y el TNF- $\alpha$  aumentaron alrededor de un 50% en ambos grupos. En este caso, mientras que el error estándar fue algo bajo en los valores basales, en las mediciones finales fue bastante elevado, especialmente en los valores de CRP, contribuyendo a que el aumento no fuera estadísticamente significativo. No se dio ninguna explicación a estos resultados y

tampoco se detallaron las técnicas usadas para medir estos marcadores. Los valores basales de LDLc para los grupos placebo y RES parecieron muy diferentes. A pesar de la medicación tomada por los pacientes, las funciones hepáticas, tiroideas y renales no se han monitorizado para descartar cualquier posible efecto secundario. No se han usado covariables en el análisis estadístico. En relación a la función endotelial medida como FMD, hay que resaltar la mejora observada con la baja dosis de RES ensayada (10 mg). Esta mejora fue semejante a la observada por Fujitaka *et al.* (Fujitaka, *et al.*, 2011) tras el mismo tiempo de ensayo (3 meses), a pesar de que se usó una concentración 10 veces más baja. Una conclusión rápida, cuando se comparan estos estudios, es que hubo una mejora en la FMD en 2 estados patológicos muy diferentes (síndrome metabólico y EAC) y que esta mejora no fue proporcional a la dosis de RES.

Otro ensayo piloto reciente, centrado en la sensibilidad a la insulina y tolerancia a la glucosa, fue llevado a cabo por Crandall *et al.* (Crandall, *et al.*, 2012). Adultos con exceso de peso/obesidad y resistencia moderada a la insulina (7 mujeres y 3 varones,  $72 \pm 3$  años) ingirieron 1, 1,5 o 2 g RES (cápsulas) al día, durante 1 mes. Algunos participantes estaban sujetos a tratamientos antihipertensivos (n=4) y estatinas (n=3). A pesar de que los voluntarios fueron aleatoriamente elegidos para tomar 1 de las 3 dosis de RES testadas, el estudio fue abierto y no controlado por placebo. En general, tras 4 semanas, el pico post-ingesta y el AUC (área bajo la curva) de la glucosa a las 3 horas disminuyeron y el índice Matsuda para la sensibilidad a la insulina mejoró un 18,4%. A pesar de las altas dosis de RES testadas, no se observaron cambios en la hsCRP ni en el perfil lipídico del suero. Existen algunas limitaciones en este ensayo relacionadas con el diseño, duración y tamaño muestral; sin embargo, estos resultados confirman la mejora en la sensibilidad a insulina tras el consumo de RES y también incluyeron la búsqueda específica de posibles interacciones de fármacos y la evaluación de algunas enzimas



## **Introducción General**

relacionadas con la función hepática. Interesantemente, como se ha mencionado anteriormente, Brasnyó *et al.* (Brasnyó, *et al.*, 2011) también describieron una mejora en la sensibilidad a la insulina en diabéticos tras el consumo de 10 mg de RES durante el mismo tiempo de seguimiento (1 mes).

Recientemente, Maia *et al.* (Maia, *et al.*, 2012) han evaluado el efecto del RES en el tratamiento del dolor relacionado con la endometriosis en 12 pacientes de edad reproductiva que no habían obtenido alivio del dolor usando un anticonceptivo oral (conteniendo 3 mg de drospirenona más 30 µg de etinilestradiol), durante 6 meses. La adición de 30 mg de RES al régimen anticonceptivo resultó en una reducción significativa en las puntuaciones de dolor, con un 82% de los pacientes reconociendo la resolución completa de la dismenorrea y dolor pélvico después de 2 meses de uso. En un experimento independiente, se investigó la aromatasa y la expresión de COX-2 en el tejido endometrial de 42 pacientes sometidas a laparoscopia e histeroscopia para el tratamiento de la endometriosis. Dieciséis de estas pacientes habían estado utilizando drospirenona + etinilestradiol en un régimen prolongado, durante al menos 2 meses antes de la cirugía, mientras que las 26 restantes utilizaron el mismo régimen anticonceptivo junto con 30 mg de RES. Se verificó una inhibición de la aromatasa y expresión de COX-2 significativamente mayor en el endometrio eutópico de pacientes con una terapia combinada de drospirenona + RES en comparación con el endometrio de pacientes que usaron solamente anticonceptivos orales. Se trató de un ensayo clínico abierto y no aleatorio. Los autores reconocen que son necesarios ensayos clínicos mejor diseñados para confirmar que la combinación de anticonceptivos orales con RES es superior a la utilización de progestinas o de solamente anticonceptivos orales combinados en el tratamiento de los síntomas del dolor relacionado con la endometriosis. Además, la aromatasa y expresión de la COX-2 se evaluaron únicamente

por métodos inmunohistoquímicos semicuantitativos, sin que se llevasen a cabo otros estudios confirmatorios utilizando técnicas de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa. No se han usado covariables en el análisis estadístico.

Muy recientemente, Popat *et al.* (Popat, *et al.*, 2012) han publicado un ensayo clínico de fase 2, no aleatorio, con 2 brazos y abierto, sobre los efectos de la formulación SRT501 (RES micronizado), con o sin bortezomib, en pacientes de mieloma múltiple (MM) que hubiesen recaído o sido refractarios de al menos un tratamiento previo. Veinticuatro pacientes fueron inscritos en este ensayo. Los criterios de inclusión incluyeron una adecuada función renal y de médula ósea se permitió el uso previo de bortezomib independientemente de la respuesta. Los pacientes recibieron 5 g de SRT501 después del desayuno, durante 20 días en un ciclo de 21 días, hasta 12 ciclos. La duración media del estudio fue de 92,8 días y los pacientes recibieron una dosis media acumulativa de 336 g de SRT501 (desde 5 hasta 1505 g). El hallazgo predominante del estudio fue una inesperada toxicidad renal, con 5 eventos adversos graves de insuficiencia renal llevando a la terminación anticipada del estudio. Los eventos adversos más indicados por los pacientes fueron: náuseas (79%) y diarrea (71%). Como el SRT501 se metaboliza extensamente, la insuficiencia renal pareció ser específica para pacientes con MM. No se observó insuficiencia renal para el SRT501 y bortezomib, a pesar de la baja eficacia. Sin embargo, la estabilización de la enfermedad por el bortezomib puede haber impedido la insuficiencia renal, mientras que la baja eficacia de SRT501, con náuseas y vómitos, pudo haber resultado en la progresión de la enfermedad y deshidratación, llevando a la insuficiencia renal. Según los autores, este estudio demostró un perfil de seguridad inaceptable y una eficacia mínima en pacientes con MM recidiva/refractaria.

## **Introducción General**

Finalmente, Militaru *et al.* (Militaru, *et al.*, 2013) evaluaron el efecto del consumo oral de fructoborato de calcio (CF), RES y su combinación, a corto plazo (60 días), en los estados clínicos y biológicos de sujetos con angina de pecho estable. El ensayo clínico fue aleatorio, doble ciego, controlado por tratamiento estándar y paralelo. El ensayo estuvo formado por 3 grupos aleatorios y un grupo control no aleatorio. Todos los grupos recibieron su habitual atención médica y tratamiento. Además, un grupo recibió 1 cápsula diaria (20 mg/día) de un extracto en polvo estandarizado al 50% RES (10 mg *trans*-RES); otro grupo recibió la misma dosis de RES combinada con CF (112 mg/día); y el tercer grupo tomó solamente CF. El grupo control se restringió a su habitual atención médica y tratamiento. Un total de 29 individuos en cada grupo iniciaron y completaron el período de 60 días. A los 30 y 60 días, se verificó una disminución significativa de hsCRP en todos los grupos. Esta disminución fue mayor (39,7%, a los 60 días) para el grupo de CF, seguido por el grupo RES + CF (30,3%, 60 días). Los niveles de prohormona N-terminal del péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) se redujeron significativamente en los grupos RES (59,7%, 60 días) y CF (52,6%, 60 días). Sin embargo, su combinación fue más efectiva e indujo una disminución de 65,5%. Los marcadores lipídicos presentaron leves cambios en relación a los valores iniciales en todos los grupos. La mejora en la calidad de vida se observó mejor en los sujetos que recibieron la mezcla de RES y CF. No se usaron covariables en el análisis estadístico. El RES pareció ser bien tolerado ya que los voluntarios no comunicaron efectos adversos, aunque no se llevó a cabo una evaluación de la seguridad focalizada en parámetros serobioquímicos y hematológicos.

**1.1.8.4.2.2.2. Sujetos no-medicados (sanos o en riesgo de enfermedad)**

Uno de los primeros estudios con un extracto conteniendo RES fue realizado por Ghanim *et al.* (Ghanim, *et al.*, 2010) (**Tabla 4**). Los autores llevaron a cabo un ensayo aleatorio, con 2 brazos paralelos, abierto, controlado por placebo y con un seguimiento de 6 semanas. Se obtuvieron resultados notables en relación a la CRP y TNF- $\alpha$  en individuos sanos tras el consumo de un extracto herbal conteniendo 40 mg RES durante 3 semanas. Estos resultados fueron sorprendentes teniendo en cuenta que los niveles basales de ambas variables son muy bajos en individuos sanos. A este nivel de concentraciones, cambios muy ligeros sólo pueden ser detectados cuando se miden valores de hsCRP y hsTNF- $\alpha$ , algo que no fue especificado en el estudio. La prevención de la subida de estos marcadores pro-inflamatorios puede ser una diana en sujetos en riesgo o con enfermedades establecidas, o tras un estrés inflamatorio específico. Sin embargo, no está claro que la disminución de estos mediadores importantes de la homeostasis a valores por debajo de lo normal sea deseable en personas sanas, no medicadas. Se verificó una reducción significativa en ambos marcadores tras 3 semanas de administración, mientras que con la misma dosis, los valores tendieron hacia la recuperación tras 6 semanas y no se verificó una diferencia significativa en relación a los valores basales en el caso de la CRP. Una importante limitación del estudio es que la posible influencia del estilo de vida, incluyendo la dieta, no fue tomada en consideración en el seguimiento. La proporción de hombres/mujeres no fue especificada, lo cual puede ser relevante una vez que la expresión de algunos genes, como SOCS-3, es dependiente del sexo (Waters, 2003). No usaron covariables en el análisis estadístico (edad, sexo, etc.). Además, la relevancia del RES en los efectos observados no quedó clara ya que no se testó un extracto herbal sin RES (el extracto herbal usado tenía un 20% de RES y no se detalló la composición del 80% restante).

## **Introducción General**

Como fue mencionado antes, Brown *et al.* (Brown, *et al.*, 2010) evaluaron la farmacocinética del RES (**Tabla 1.3**) y también los efectos en IGF-1 y IGFBP-3 circulantes tras el consumo de 0,5, 1, 2,5 y 5 g RES durante 29 días. Se ha descrito que la señalización del eje IGF desempeña un papel crucial en el desarrollo del cáncer (Sandhu, *et al.*, 2002). La disminución más resaltante se encontró en voluntarios consumiendo la dosis de 2,5 g, mientras que el efecto en IGFBP-3 fue principalmente observado para las dosis de 1 y 2,5 g. La dosis más elevada de RES (5 g) no tuvo efectos, así que no se encontró una relación clara entre la concentración de metabolitos en el plasma y los efectos observados. Una interpretación posible para estos resultados es que una concentración más alta no significa necesariamente un efecto proporcional (Scott, *et al.*, 2012). Estas dosis de RES fueron bien toleradas por los 4 grupos; sin embargo, el término “seguro” no debería ser usado explícitamente con tiempos de exposición tan cortos y en ausencia de medicación. Además, no se determinaron variables serobioquímicas y hematológicas para ayudar a confirmar la seguridad del ensayo.

Chow *et al.* (Chow, *et al.*, 2010) llevaron a cabo un estudio en humanos esencial (11 hombres y 31 mujeres) sobre el efecto del RES en las isoenzimas de fase I (citocromo P450; CYP) y enzimas de detoxificación de fase II tras el consumo de 1 g de RES durante 1 mes. El índice fenotípico de CYP disminuyó el 50%, 75% y 175% en CYP3A2, CYP2D6 y CYP2C9, respectivamente, mientras que aumentó un 20% en CYP1A2. No se observó un efecto significativo en las actividades de GST y UGT1A1. La interpretación de estos resultados tiene dos sentidos. Por un lado, estos resultados pueden reforzar la actividad quimiopreventiva atribuida al RES, a través de la modulación de sistemas enzimáticos involucrados en la activación y detoxificación de carcinógenos. Por otro lado, el RES inhibió isoenzimas CYP que están críticamente

involucradas en la biodisponibilidad, metabolismo, activación y detoxificación de muchos fármacos, incluyendo aquellos usados para el tratamiento del cáncer. Así que son necesarios más estudios para confirmar que exposiciones por periodos más largos, con dosis elevadas de RES, pueden afectar el sistema CYP, especialmente en la presencia de fármacos terapéuticos. Esta evaluación supone un reto, pero si la preocupación relativa a la seguridad no se aclara, el futuro del RES como un potencial fármaco multidiaria es bastante dudoso.

Como se ha mencionado previamente en la sección de efectos preclínicos del RES, un número de estudios han descrito resultados prometedores con respecto al RES y las funciones del cerebro (**Tabla Suplementaria 9**). Sin embargo, hasta la fecha, el único ensayo clínico sobre este tema fue llevado a cabo por Kennedy *et al.* (Kennedy, *et al.*, 2010). En un ensayo aleatorio, cruzado, doble-ciego, dosis-respuesta y controlado por placebo, 22 participantes ingirieron una dosis única de placebo, 250 mg o 500 mg de RES. Inicialmente, se determinaron las concentraciones de RES y derivados metabólicos en plasma. Las concentraciones máximas de metabolitos de RES se encontraron entre 90 y 120 min. Tras un periodo de absorción en reposo de 45 minutos, los voluntarios desempeñaron un número de tareas cognitivas que activaron el córtex frontal durante 36 minutos adicionales. Se midieron el flujo sanguíneo y la hemodinámica en el cerebro, observando que el RES hizo aumentar el flujo sanguíneo y la extracción cerebral de oxígeno de una manera dependiente de la dosis. A pesar de que no se vio un efecto en la función cognitiva, no se puede descartar que esto ocurra tras una ingesta crónica. De esta manera, se debería evaluar cuál es la concentración mínima de RES necesaria para mejorar el flujo sanguíneo cerebral en estudios futuros (para minimizar las preocupaciones con la seguridad) y realizar tareas cognitivas intermitentes en individuos sanos tras la ingesta crónica (meses) de RES.

## Introducción General

Ghanim *et al.* (Ghanim, *et al.*, 2011) realizaron un paso siguiente lógico en sus investigaciones después de su primer estudio en individuos sanos (Ghanim, *et al.*, 2010), en el cual se observó que el RES afectaba a un número de genes relacionados con oxidación e inflamación en la ausencia de cualquier tipo de inducción de estrés. En este caso, el objetivo fue evaluar los efectos de una única ingesta de un nutraceutico, conteniendo 100 mg de RES de *P. cuspidatum* más 75 mg de fenólicos de uva variedad “*muscadine*”, tras una comida rica en grasa y carbohidratos (HFHC) (930 kcal). De acuerdo con su estudio previo, también mejoraron un número de genes relacionados con oxidación e inflamación, incluyendo la expresión de p47<sup>phox</sup>, IL-1 $\beta$ , CD14 y TLR4 y las concentraciones de lipopolisacárido (LPS) y proteína ligadora de lipopolisacárido (LBP). Además, los autores observaron una inducción del factor de transcripción antioxidante Nrf-2, y una mejora en la expresión de algunos genes diana del Nrf-2, como NQO-1 y GST-1P. De acuerdo con la prevención del aumento de SOCS-3 verificada en cerdos alimentados a largo plazo con una dieta aterogénica y con un suplemento rico en RES (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2012a), en este estudio también se observó una prevención del aumento de SOCS-3, el cual puede desempeñar un papel en la resistencia a la insulina y leptina (Bjørbaek, *et al.*, 1999, Emanuelli, *et al.*, 2003). Además, a pesar del resultado significativo encontrado para la hsCRP en su ensayo previo (Ghanim, *et al.*, 2010), este importante mediador pro-inflamatorio no fue explorado esta vez. De hecho, la prevención del aumento de hsCRP tras una comida HFHC es una diana común para atenuar un estado pro-inflamatorio postprandial. Además, no se aclaró la relevancia específica del RES en los efectos observados ya que no se llevó a cabo un experimento paralelo con el mismo nutraceutico, pero sin RES. No se incluyó una caracterización fenólica de la uva *muscadine* en el estudio y no se usaron covariables en el análisis estadístico.

Otro efecto agudo del RES fue publicado por Wong *et al.* (Wong, *et al.*, 2011) en individuos con exceso de peso/obesos no medicados y con presión sanguínea moderadamente elevada. Una hora tras el consumo de RES, la FMD aumentó el 65%, con dosis de 30 y 90 mg, y un 88%, con 270 mg. Así, la FMD no mejoró proporcionalmente a la dosis de RES tomada. Se encontró una correlación significativa ( $P < 0,01$ ), pero baja ( $R = 0,08$ ), entre la FMD y el  $\log_{10}$  de RES plasmático. Sin embargo, la concentración total de RES fue calculada usando tratamientos de glucuronidasa/sulfatasa y, de esta forma, la posible contribución individual específica de metabolitos en la mejora de la FMD (si alguna existía) quedó sin ser aclarada. Además, la medición de la FMD se hizo a un único tiempo (1 h tras la ingesta de RES). Teniendo en cuenta que la biodisponibilidad del RES presenta alta variabilidad interindividual y que los parámetros de farmacocinética pueden cambiar dependiendo de la formulación de RES, la FMD debería de ser medida a diferentes tiempos y correlacionada con el perfil farmacocinético específico para cada preparación de RES testada. De hecho, las cápsulas de RES normalmente retrasan la absorción y el metabolismo (Rotches-Ribalta, *et al.*, 2012) y no se puede descartar un efecto más pronunciado en la FMD. En el ensayo comentado anteriormente, Fujitaka *et al.* encontraron una mejora en la FMD de un 100% en pacientes con síndrome metabólico (Fujitaka, *et al.*, 2011), tras el consumo diario de 100 mg de RES durante 3 meses. Los pacientes consumieron la cápsula de RES después de la cena y la función endotelial se midió la mañana siguiente, tras una noche en ayunas. A pesar de que el perfil metabólico plasmático del RES no fue indicado, de acuerdo con publicaciones anteriores, la eliminación de RES y sus derivados metabólicos ya está casi concluida a ese tiempo (Rotches-Ribalta, *et al.*, 2012). Un razonamiento similar puede ser aplicado al estudio de Magyar *et al.* (Magyar, *et al.*, 2012) en pacientes con EAC, usando 10 mg



## **Introducción General**

de RES por día, durante 3 meses. Teniendo en cuenta estos ensayos (Fujitaka, *et al.*, 2011, Wong, *et al.*, 2011, Magyar, *et al.*, 2012), la contribución específica de los metabolitos circulantes para modificar la función endotelial no queda claro. En general, esto indica que la actividad de los metabolitos de RES está lejos de estar establecida y que la mejora en la FMD no es proporcional a la dosis de RES.

Timmers *et al.* (Timmers, *et al.*, 2011) describieron por primera vez efectos del RES semejantes a la restricción calórica en humanos. Una dosis única de RES (150 mg) fue ingerida diariamente por 11 hombres obesos sanos, durante 1 mes, y se realizó una evaluación exhaustiva del perfil metabólico y metabolismo energético de los participantes. La ingesta de RES redujo la tasa metabólica durante el sueño y en reposo. La presión sanguínea sistólica disminuyó un 5% y el índice del modelo homeostático de evaluación de la resistencia a insulina (HOMA-IR) mejoró. Los niveles de TNF- $\alpha$  disminuyeron significativamente mientras que CRP, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 no presentaron cambios estadísticamente significativos. La administración de RES mejoró la respiración mitocondrial muscular y aumentó los niveles de lípidos intramiocelulares, mientras que disminuyó el contenido lipídico intrahepático y otras variables serobioquímicas. El uso de *microarrays* en biopsias de músculo reveló una expresión diferencial de 469 genes, incluyendo la sobre-expresión de rutas de fosforilación oxidativa mitocondrial y la represión de rutas inflamatorias. La ingesta de RES también activó la AMPK y aumentó los niveles de proteínas SIRT1 y PGC-1 $\alpha$  en los extractos proteicos de las biopsias musculares. En general, los efectos fueron moderados, pero consistentes. Los autores sugieren que el perfil metabólico desfavorable en personas obesas puede ser contrarrestado por RES. Quizás, tratamientos con mayor duración en el tiempo puedan amplificar estos efectos. Estos resultados son bastante prometedores, pero no se pueden descartar posibles efectos adversos en ensayos con mayor duración,

especialmente si se incluyen sujetos medicados. Solamente 11 hombres obesos participaron en este ensayo, así que futuras investigaciones deberían confirmar los resultados con periodos de seguimiento más largos, mayores tamaños muestrales y con los dos sexos.

De Groote *et al.* (De Groote, *et al.*, 2012) realizaron un ensayo aleatorio, con 3 brazos, ciego y controlado por placebo en sujetos obesos que ingirieron diariamente dosis de 150 mg de RES (n=10), 300 mg de extracto de semillas de uva rico en catequina (CGSE, n=12) o 400 mg de fosfato de RES (RTP, n=10) durante 28 días. Las dosis se ajustaron al nivel molar (0,66 mmol en cada caso). Se usó un *microarray* de baja densidad (200 genes) para evaluar el perfil de transcritos de ARN en la sangre entera. Tras 28 días, fueron afectados 10, 15 y 28 genes en los grupos RES, RTP y CGSE, respectivamente. Los genes afectados se clasificaron en “antioxidantes”, “inflamatorios”, “respuesta al estrés” y “otros”. Sin embargo, estos resultados preliminares no fueron validados por RT-PCR y/o al nivel de proteína. Se llevaron a cabo un número de determinaciones en suero: “poder antioxidante total”, sistemas antioxidantes endógenos como GPx, y superóxido dismutasa (SOD), glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG), peróxidos lipídicos (LOOH), LDL oxidada (LDLox), y anticuerpos contra las LDLox (anti-LDLox). Se observaron mejoras estadísticamente significativas, principalmente para los grupos CGSE y RTP en la GSSG, GPx y anti-LDLox.

Recientemente, Heger *et al.* (Heger, *et al.*, 2012) evaluaron el efecto de un suplemento dietético frente al daño oxidativo del ADN y el estado redox de individuos sanos. Este estudio presenta un número de limitaciones, tales como la falta de aleatoriedad y de control por placebo, ser abierto, y realizarse con un tamaño muestral reducido (7 mujeres y 5 hombres) en un tiempo de seguimiento muy corto (5 días). Los

## **Introducción General**

voluntarios consumieron 3 cápsulas/día. Cada cápsula contenía 2 mg de RES, 100 mg de extracto de uva liofilizado, 50 mg de extracto de aceite de oliva liofilizado, 3 mg de licopeno, 100 mg de vitamina C y 30 mg de “bioflavonoides” de frutos cítricos. No se encontraron efectos significativos a corto plazo en los parámetros de estabilidad del ADN de células sanguíneas periféricas. Los autores enfocaron especialmente la ausencia de efecto refiriéndose a la ingesta de RES (6 mg/día) cuando otras moléculas antioxidantes o productos relevantes también estaban presentes en el suplemento (vitamina C, licopeno, extracto de aceite de oliva, etc.). Se sabe que la actividad antioxidante del RES *in vivo* es discreta en comparación con otros fenólicos (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2012a). Además, no incluyó el análisis fitoquímicos de los extractos de uva y aceite de oliva utilizados en el estudio. Tampoco se verificaron efectos en los valores de LDLox y CRP, probablemente debido al estado sano de los sujetos, ausencia de inducción por un estrés específico (inflamatorio, comidas ricas en grasa, etc.), y tiempo corto de seguimiento. Además, en el caso de la CRP, los niveles de este marcador estaban en el límite de cuantificación con respecto al método usado (Sisman, *et al.*, 2007). A pesar de que no se haya especificado, la extracción de sangre fue aparentemente llevada a cabo todos los días durante la mañana, y, así, sería de esperar encontrar una eliminación completa de los compuestos (especialmente de RES). Esto significa que no pueden ser descartados efectos en los parámetros de estabilidad del ADN en las primeras horas tras el consumo del suplemento.

Zhu *et al.* (Zhu, *et al.*, 2012) condujeron, en mujeres sanas, pero con un elevado riesgo de cáncer de mama, un ensayo aleatorio, doble-ciego, con 3 brazos y controlado por placebo. Las voluntarias consumieron placebo, 5 mg o 50 mg de RES, durante 3 meses. En este ensayo, que fue el primer en evaluar los efectos del RES en mujeres en riesgo de cáncer de mama, 39 participantes empezaron el estudio, pero solamente 31 lo

terminaron. No todos los biomarcadores fueron medidos en todos los puntos elegidos para el seguimiento. La determinación del estado de metilación de 4 genes relacionados con el cáncer (p16, RASSF-1 $\alpha$ , APC y CCND2) se llevó a cabo en las muestras de ductoscopia mamaria de 22 participantes, y los niveles de prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>) se midieron en el suero y en los fluidos aspirados del pezón (NAF). Usando una técnica de cuantificación de metilación específica (qMS)-PCR, no se observaron cambios significativos en los genes indicados y tampoco se observaron efectos en los niveles de PGE<sub>2</sub>. La concentración total de RES en el suero aumentó con la dosis consumida y su logaritmo presentó una correlación estadísticamente significativa con una disminución de la metilación del gen supresor de tumores RASSF-1 $\alpha$  (P=0,047;  $r^2=-0,14$ ). Los perfiles metabólicos del RES en las muestras de suero, NAF y ductoscopia no fueron determinados. Por otro lado, los posibles efectos se han enfocado solamente en 4 genes mientras que las técnicas de *microarray* y *antibody array* hubieran, probablemente, arrojado resultados interesantes.

Yoshino *et al.* (Yoshino, *et al.*, 2012) realizaron un ensayo clínico aleatorio, doble ciego y controlado por placebo para evaluar los efectos metabólicos de la toma de RES en mujeres postmenopáusicas no obesas con tolerancia a la glucosa normal. El estudio se llevó a cabo durante 12 semanas y estuvo formado por 3 grupos (constituidos por un total de 45 mujeres caucásicas, algunas delgadas y otras con exceso de peso). Un grupo tomó placebo (n = 15), otro RES (75 mg/día) (n = 15), y el tercero fue sometido a una restricción calórica dirigida a alcanzar una pérdida de peso del 5% en un periodo de 12 semanas (n = 15). A pesar de que la ingesta de RES aumentó su concentración en plasma, no hubo cambios en la composición corporal, tasa metabólica en reposo, lípidos plasmáticos o marcadores inflamatorios. Además, no se observó un aumento en la sensibilidad a la insulina en el hígado, músculo esquelético o tejido adiposo. De manera

## **Introducción General**

consistente con la ausencia de efectos metabólicos *in vivo*, el RES no afectó a sus supuestas dianas moleculares, incluyendo AMPK, SIRT1, NAMPT, y PPARGC1A, en el músculo esquelético y en el tejido adiposo. Se usaron los valores basales como covariables. La adición del grupo de restricción calórica al análisis de las medidas finales no cambió las comparaciones entre los grupos placebo y RES. Los autores concluyeron que estos hallazgos demuestran que el consumo de RES no ejerce efectos metabólicos beneficiosos en mujeres postmenopáusicas no obesas con tolerancia a la glucosa normal. Sin embargo, los autores realzan la diferencia importante entre este estudio y otros donde se publicaron varios beneficios metabólicos, i.e. en estos estudios los participantes padecían de disfunciones metabólicas más severas, tales como obesidad, diabetes del tipo 2, y tolerancia a la glucosa reducida. Además, los autores añaden que estudios en modelos murinos con obesidad inducida por la dieta han demostrado que el RES mejoró la sensibilidad a la insulina, lípidos, y función mitocondrial, pero no ejerció efectos metabólicos beneficiosos en roedores normales. En este contexto, los autores sugieren la posibilidad de que el RES solamente mejore los resultados metabólicos en personas obesas y metabólicamente anormales y no en mujeres no obesas tolerantes a la glucosa.

Otro ensayo clínico focalizado en los efectos metabólicos en personas obesas de una alta dosis de RES (1,5 g/día) fue llevado a cabo por Poulsen *et al.* (Poulsen, *et al.*, 2012). El estudio se realizó en 24 hombres obesos, pero sanos, que fueron aleatoriamente asignados a 4 semanas de tratamiento con RES o placebo. En este ensayo, controlado por placebo, doble ciego y paralelo, se realizaron exámenes metabólicos extensos, incluyendo la determinación de la tasa de renovación (*turnover*) de la glucosa y sensibilidad a la insulina, antes y después del tratamiento. La sensibilidad a la insulina empeoró no significativamente en ambos grupos. La

producción de glucosa endógena y las tasas de *turnover* y oxidación de la glucosa permanecieron inalteradas. Tampoco hubo efecto en la presión sanguínea, gasto energético en reposo, tasas de oxidación de lípidos, contenido de grasa ectópico o visceral, o en biomarcadores inflamatorios y metabólicos. La ausencia de efectos llevó a los autores a cuestionar el RES como suplemento nutricional en los trastornos metabólicos.

En los últimos meses se ha publicado un ensayo aleatorio, doble ciego y cruzado, relacionado con el consumo de RES por fumadores adultos sanos (Bo, *et al.*, 2012). Veinticinco voluntarios fueron asignados al azar a tomar 500 mg de RES al día durante 30 días, seguidos de 30 días de lavado, y finalmente 30 días de placebo. A la vez, otros 25 voluntarios siguieron un régimen de placebo durante 30 días, seguido de 30 días de lavado, y finalmente 500 mg RES/día durante 30 días. El RES redujo significativamente las concentraciones de CRP y triglicéridos y aumentó los valores del estado antioxidante total (TAS). Después de analizar los datos con modelos lineales generales para evaluar los efectos de período y arrastre, las proporciones de los valores de RES frente a placebo fueron respectivamente: 0,47 (IC del 95%: 0,38-0,59) para la CRP y 0,71 (IC del 95%: 0,65-0,78) para los triglicéridos, mientras que el TAS sufrió un aumento de 74,2  $\mu\text{mol/L}$  (IC del 95%: 60,8-87,6). El ácido úrico, glucosa, insulina, colesterol, las concentraciones de enzimas hepáticas y peso, circunferencia abdominal y los valores de presión arterial no cambiaron significativamente con la toma de RES.

Dos estudios recientes también han evaluado los efectos de preparaciones con RES en la piel tras su aplicación tópica. Fabbrocini *et al.* (Fabbrocini, *et al.*, 2011) describieron las propiedades antiacnéicas del RES en 20 voluntarios con *acne vulgaris* en un ensayo controlado por vehículo. Un hidrogel con y sin (vehículo) RES fue aplicado diariamente en cada lado de la cara de los participantes, durante 2 meses. No se

## **Introducción General**

reportaron efectos adversos. La evaluación clínica reveló una reducción media de un 53,7% en la puntuación del sistema de graduación global del acné (GAGS) con la preparación conteniendo RES, mientras que con el vehículo la reducción fue del 6,1%. Estos resultados fueron reforzados por análisis histológicos que demostraron una reducción del 66,7% en la área de microcomedones en el lado tratado con RES frente a una reducción del 9,7% en el otro lado. En general, los autores sugieren que estos resultados merecen más estudios con mayor tamaño muestral. A pesar de que los resultados fueron prometedores, la efectividad terapéutica de esta preparación en comparación con otros tratamientos antiacneicos bien conocidos no fue incluida, algo necesario para poder reivindicar la viabilidad comercial de las formulaciones con RES en la prevención o tratamiento de *acne vulgaris*.

Recientemente, Wu *et al.* (Wu, *et al.*, 2012) describieron el efecto protector del trifosfato de RES frente al eritema inducido por UV. Diferentes preparaciones de cremas hidratantes fueron testadas en 15 mujeres sanas. Se aplicaron diferentes combinaciones en diferentes zonas de piel dorsal que se expusieron a UV durante 4 días consecutivos: 1) trifosfato de RES (1%) más una mezcla antioxidante (0,1% fosfato de ascorbilo, 0,5% acetato de tocoferol, 0,01% extracto de *echinacea pallida*, 0,12% extracto de camomila y 0,18% caféina), 2) trifosfato de RES, 3) mezcla antioxidante o 4) vehículo hidratante. Los productos del estudio se aplicaron directamente después de la exposición a UV y los efectos se compararon con controles positivos (solamente exposición a UV) y negativos (sin exposición a UV y sin cremas). Análisis no invasivos de color de piel (promedio de valores  $L^*a^*b$ ) e histológicos (células quemadas por el sol y contenido de melanina) fueron estudiados para cada tratamiento a partir de biopsias. En general, dependiendo del parámetro específico investigado, los mejores resultados (una reducción del eritema, número de células quemadas y contenido en

melanina (porcentajes y densidades ópticas)) se observaron con el trifosfato de RES por sí solo o en combinación con la mezcla antioxidante. Sin embargo, no se llevaron a cabo análisis estadísticos para la comparación inter-grupos.

Por último, Buonocore y colaboradores (Buonocore, *et al.*, 2012) han evaluado los efectos tópicos y sistémicos de un suplemento de uva conteniendo 8 mg de RES y procianidinas en cambios en la piel relacionadas con la edad, en el estado antioxidante de la misma y en los niveles de estrés oxidativo sistémico. Se realizó un estudio instrumental en 50 voluntarios (placebo, n=25 y tratamiento, n=25) con señales clínicas de envejecimiento de la piel (arrugas, tez mate, manchas marrones) para identificar las características clínicas inducidas por el envejecimiento cronológico y por el fotoenvejecimiento. La eficacia del producto se evaluó tras 60 días de tratamiento en términos de niveles de hidratación de la piel *in vivo* e *in situ*, elasticidad y niveles de aspereza de la piel, estrés oxidativo sistémico a través de derivados plasmáticos de metabolitos reactivos de oxígeno y pruebas de oxi-adsorción y estado antioxidante de la piel. Después de 60 días de tratamiento, los valores para el poder antioxidante de la piel y capacidad antioxidante plasmática aumentaron significativamente, mientras que el estrés oxidativo sistémico disminuyó. Además, mejoró la hidratación y elasticidad de la piel, mientras que la aspereza y profundidad de las arrugas disminuyó. La intensidad de las manchas de la edad disminuyó significativamente, según lo evidenciado por la mejora en el ángulo tipológico individual. No fueron consideradas covariables en el análisis estadístico.



***Introducción General***

**Tabla 1.4.** Ensayos clínicos publicados relacionados con los efectos del RES en la salud humana.

<b>Cohorte y tamaño muestral (n)</b>	<b>Diseño del ensayo, dosis de RES y tiempo de intervención</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Sujetos con enfermedad establecida y/o bajo medicación</i></b>				
Pacientes con cáncer del colon (n=8).	Aleatorio con 4 brazos paralelos. No controlado por placebo. Abierto. Ingesta diaria (durante 19 días) de: 80 g de polvo de uva (GP) con 0,07 mg de RES, n=3; o 120 g GP con 0.11 mg RES, n=2; o 3,9 mg RES + 120 mg quercetina, n=2; o 15,5 mg RES + 480 mg quercetina, n=1. Se disolvió el GP en agua. RES + quercetina en cápsulas. Número de registro: NCT00256334 <sup>a</sup> .	Cambios en la ruta Wnt en tejidos normales y cancerosos tras la cirugía.	Inhibición de algunos genes de la ruta Wnt solamente en el tejido normal.	(Nguyen, <i>et al.</i> , 2009)
Pacientes con cáncer colorrectal (n=20).	No-aleatorio con 2 brazos paralelos. No controlado por placebo. Ciego para los análisis. Ingesta diaria (durante 8 días) de 0,5 g, n=10; o 1 g de RES micronizado RES, n=10. RES en cápsulas .	Detección de RES y metabolitos derivados en tejido colorrectal, y efecto en el marcador de proliferación Ki-67.	El nivel de Ki-67 fue reducido en un 5% y 7% en el tejido canceroso y normal, respectivamente.	(Patel, <i>et al.</i> , 2010)
Pacientes con cáncer colorrectal y metástasis hepática (n=6).	Aleatorio con 2 brazos paralelos. Controlado por placebo. Ingesta diaria pre-operación (desde 10 hasta 21 días) de una bolsita conteniendo 5 g de RES micronizado o placebo. Número de registro: NCT00920803	Farmacocinética, disposición de tejidos y efecto en el marcador de apoptosis (caspase-3 activada).	Detección de RES en el tejido hepático y aumento (39%) del contenido de caspasa-3 activada en este tejido. El RES fue bien tolerado. Biodisponibilidad del RES más alta que la reportada para el RES estándar.	(Howells, <i>et al.</i> , 2011)
Hombres con diabetes del tipo 2 (n=19).	Aleatorio con 2 brazos paralelos. Controlado por placebo. Doble ciego. Seguimiento: 4 semanas. Ingesta diaria de 10 mg RES, n=10 o placebo, n=9. RES en cápsulas .	Efecto en la sensibilidad a la insulina y explorar los posibles mecanismos relacionados.	Disminución de la Resistencia a la insulina posiblemente debido a una reducción del estrés oxidativo y mejora de la señalización de insulina a través de la ruta Akt.	(Brasnyó, <i>et al.</i> , 2011)
Pacientes con síndrome metabólico (n=34).	Aleatorio e entrecruzado. Abierto y no controlado por placebo. Seguimiento durante 6 meses (tratamiento efectivo con RES durante 3 meses y después se monitoriza pero sin tratamiento), i.e. en los primeros 3 meses el grupo A (n=17) ingirió diariamente 100 mg RES e interrumpió la toma durante los 3 meses siguientes. El grupo B (n=17) siguió el patrón	Mejora en la función endotelial en pacientes medicados y con síndrome metabólico.	En ambos grupos, la FMD aumentó aproximadamente de 4% hasta 9% y volvió a los valores basales tras la discontinuación del tratamiento con RES. No se observaron efectos en algunos marcadores inflamatorios y aterogénicos.	(Fujitaka, <i>et al.</i> , 2011)

inverso. RES en cápsulas.

**Tabla 1.4 (cont.).** Ensayos clínicos publicados relacionados con los efectos del RES en la salud humana.

<b>Cohorte y tamaño muestral (n)</b>	<b>Diseño del ensayo, dosis de RES y tiempo de intervención</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Sujetos con enfermedad establecida y/o bajo medicación</i></b>				
Diabéticos del tipo 2 (n=62).	Aleatorio con 2 brazos paralelos. No controlado por placebo. Abierto. Seguimiento: 3 meses tras la ingesta diaria de fármacos hipoglicémicos + 250 mg RES (n=28) o solamente fármacos hipoglicémicos en grupo control (n=29). Productos del estudio en cápsulas. Número de registro (India): CTRI/2011/05/001731.	Efectos en el control glicémico y marcadores de riesgo asociados.	RES mejoró las presiones sistólica y diastólica, HA <sub>1c</sub> (-5%) y las concentraciones de colesterol total y LDLc.	(Bhatt, <i>et al.</i> , 2012)
Adultos mayores con exceso de peso/obesidad y resistencia a la insulina moderada (n=10).	Distribución aleatoria para la toma de cápsulas de RES, durante 4 semanas, con una de 3 dosis posibles: 1, 1,5, y 2 g/día, tomadas en porciones. Abierto. Diseño del estudio no controlado. Número de registro: NCT01375959.	Metabolismo de la glucosa y función vascular.	Mejora de la resistencia a la insulina y glucosa plasmática post-comida. Los resultados no difirieron según la dosis. No se observaron interacciones entre fármacos durante el ensayo.	(Crandall, <i>et al.</i> , 2012)
Pacientes con EAC estable (n=40).	Aleatorio con 2 brazos paralelos. Controlado por placebo. Doble ciego. Seguimiento: 3 meses de ingesta diaria de 10 mg RES en uno de los grupos. RES en cápsulas.	Efectos cardioprotectores tras un infarto del miocardio.	RES disminuyó la LDLc (8%) y mejoró la función endotelial (50%), función diastólica ventricular izquierda (2%), y protegió contra cambios hemorreológicos desfavorables. Sin efecto en la CRP y TNF $\alpha$ .	(Magyar, <i>et al.</i> , 2012)
Pacientes tomando un anticonceptivo oral	No aleatorio. Abierto. 2 experimentos separados: 1) Seguimiento: 2 meses con 30 mg de RES junto con un anticonceptivo oral (3 mg drospirenona + 30 $\mu$ g etinilestradiol) tomado en los 6 meses previos; 2) Seguimiento: tras una laparoscopia e histeroscopia para el tratamiento de la endometriosis. 16 pacientes tomaron el anticonceptivo oral durante al menos 2 meses antes la cirugía y 26 lo tomaban juntamente con RES.	Experimento 1: Efecto en el tratamiento del dolor relacionado con la endometriosis en pacientes que no obtuvieron alivio durante el uso de un anticonceptivo oral. Experimento 2: Efecto en la aromatasa y en la expresión	Reducción significativa de la puntuación de dolor (82% de las pacientes revelaron una solución completa de la dismenorrea y dolor pélvico tras 2 meses tomando RES. Se verificó una inhibición significativamente mayor en la aromatasa y COX-2 en el endometrio de pacientes tomando RES.	(Maia, <i>et al.</i> , 2012)

## Introducción General

Pacientes con mieloma múltiple	Fase 2. No aleatorio. Abierto. Con 2 brazos. Seguimiento: 5g de SRT501 después del desayuno durante 20 días en un ciclo de 21 días y hasta un máximo de 12 ciclos. Número de registro: NCT00920556.	de COX-2 en el tejido del endometrio. Efecto del SRT501, con o sin bortezomib en pacientes con mieloma múltiple que recayeron o fueron refractarios de al menos un tratamiento previo.	Perfil de seguridad inaceptable y eficacia mínima en este tipo de pacientes.	(Popat, <i>et al.</i> , 2012)
Pacientes con <i>angina pectoris</i> estable	Aleatorio. Doble ciego. Controlada por tratamiento estándar. Paralelo. Seguimiento: inclusión, 30 y 60 días de toma oral con fructoborato de calcio (CF), RES, o su combinación. Número de registro: ISRCTN02337806.	Efecto en biomarcadores de inflamación (hsCRP), marcadores de la función ventricular izquierda (NT-proBNP), y marcadores lipídicos (colesterol total, LDL-c, HDL-c, y triacilglicerolos)	Reducción significativa en la CRP en todos los grupos: mayor para el grupo CF (39,7%, 60 días) seguida del RES + CF (30,3%, 60 días). La NT-proBNP fue significativamente reducida por el RES (59,7%, 60 días), CF (52,6%, 60 días) y la combinación de ambos (65,5%, 60 días).	(Militaru, <i>et al.</i> , 2013)

---

### ***Sujetos sanos (sin medicación)***

---

Sujetos sanos (n=20).	Aleatorio con 2 brazos paralelos. Controlado por placebo. Abierto. Seguimiento: 6 semanas de ingesta diaria de 200 mg d extracto de <i>P. cuspidatum</i> (conteniendo 40 mg RES, n=10) o placebo (n=10). Productos del estudio en cápsulas.	Efectos en el estrés oxidativo y estado inflamatorio.	El extracto con RES disminuyó ROS, p47 <sup>phox</sup> , INFKB, IKK $\beta$ and JNK, PTP-1B and SOCS-3 in PBMC. Además, las concentraciones plasmáticas de TNF $\alpha$ (-33%) y CRP (-29%) también bajaron.	(Ghanim, <i>et al.</i> , 2010)
Sujetos sanos (n=42).	No aleatorio. No controlado por placebo. Abierto. Cohorte con un único grupo para evaluar los efectos de la ingesta diaria de 1 g RES (cápsulas), durante 4 semanas.	Efecto del RES en los CYP y enzimas de fase II.	RES inhibió la actividad del CYP3A4, CYP2D6, y CYP2C9, e indujo el CYP1A2	(Chow, <i>et al.</i> , 2010)
Sujetos sanos (n=40).	No aleatorio con 4 brazos paralelos. No controlado por placebo. Ciego para los análisis. Ingesta diaria de 0,5 g (n=10), 1 g (n=10), 2,5 g (n=10) y 5 g (n=10) de Res micronizado RES durante 29 días. RES en cápsulas.	Seguridad, farmacocinética y efectos en IGF-1 y IGFBP-3 circulantes.	Los niveles de IGF-1 disminuyeron con la dosis de 2,5 g y de IGFBP-3 con las dosis de 1 y 2,5 g. No se observó una respuesta linear entre los niveles de AUC plasmático del RES y los efectos en IGF-1 y IGFBP-3.	(Brown, <i>et al.</i> , 2010)
Sujetos sanos (n=10).	No aleatorio con 2 brazos, cruzado. Controlado por placebo. Abierto. Ingesta de una dosis única de nutraceutico conteniendo 100 mg RES de <i>P. cuspidatum</i> y 75 mg de fenólicos de uva muscadina o	Efectos en el estrés oxidativo e inflamatorio causados por una comida HFHC.	Reducción en las elevaciones de LPS plasmático inducidos por la comida, y mejora en la expresión de genes relacionados con inflamación y estrés oxidativo en PBMC	(Ghanim, <i>et al.</i> , 2011)

placebo, 10 min antes de una comida rica en grasa y carbohidratos (HFHC). Efectos fueron medidos 5 horas después de la comida. Productos en cápsulas.

(p47<sup>phox</sup>, Nrf-2, TLR-4, CD14, IL-1 $\beta$ , SOCS-3, Keap-1, NQO-1 y GST-P1). Mayores efectos de 3 a 5 horas después de la comida.

**Tabla 1.4 (cont.).** Ensayos clínicos publicados relacionados con los efectos del RES en la salud humana.

<b>Cohorte y tamaño muestral (n)</b>	<b>Diseño del ensayo, dosis de RES y tiempo de intervención</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Sujetos sanos (sin medicación)</i></b>				
Mujeres con exceso de peso/obesas sanas o post-menopáusicas con presión sanguínea moderadamente alta (n=19).	Aleatorio y cruzado. Doble-ciego. No controlado por placebo. Ingesta única de 30, 90, 270 mg de RES sintético o placebo en intervalos semanales. Los análisis se realizaron 1h tras la ingesta (cápsulas).	Efectos agudos, dosis-respuesta del RES en la FMD.	FMD mejoró un 65% 1 h después del consumo de 30 o 90 mg RES y un 88% con 270 mg RES.	(Wong, <i>et al.</i> , 2011)
Hombres obesos (n=11).	Aleatorio y cruzado. Doble-ciego. Controlado por placebo. Ingesta diaria de 150 mg de RES sintético durante 1 mes (cápsulas). Número de registro: NCT00998504.	Evaluar si el RES induce cambios metabólicos en hombres obesos.	RES indujo cambios metabólicos moderados pero consistentes que imitaron la restricción calórica. Se reportaron efectos como la reducción del sueño y de la tasa metabólica en reposo, activación de la AMPK y aumento de SIRT1 y PGC-1 $\alpha$ en musculo, entre otros.	(Timmers, <i>et al.</i> , 2011)
Sujetos sanos (n=22).	Aleatorio y cruzado. Doble-ciego. Dosis-respuesta. Controlado por placebo. Ingesta única de placebo, 250 mg o 500 mg RES (cápsulas). Los análisis se realizaron 45 min tras la ingesta. Número de registro: NCT01010009.	Efecto agudo en las funciones cerebrales debido a la mejora del flujo sanguíneo.	RES aumentó el flujo sanguíneo cerebral de manera dependiente de la dosis. La función cognitiva no fue afectada.	(Kennedy, <i>et al.</i> , 2010)
Mujeres con elevado riesgo de cáncer de mama (n=31)	Aleatorio con 3 brazos paralelos. Doble-ciego. Controlado por placebo. Ingesta diaria de placebo, 5 mg RES o 50 mg RES durante 3 meses. Productos en cápsulas.	Efecto en la metilación del ADN y prostaglandina E <sub>2</sub> .	No se encontró un efecto significativo en los 4 genes estudiados (RASSF-1 $\alpha$ , APC, CCND2 y p16). Se encontró una correlación entre la reducción de la metilación de RASSF-1a y la concentración de RES en el suero.	(Zhu, <i>et al.</i> , 2012)
Sujetos obesos (n=32).	Aleatorio con 3 brazos paralelos. Controlado por placebo. Ingesta diaria de 150 mg RES (n=10), 300 mg de extracto de semilla de uva enriquecido en	Comparación entre los efectos en el estrés oxidativo en sujetos obesos.	Los <i>microarrays</i> de baja densidad en la sangre entera revelaron cambios en algunos genes relacionados con el estrés oxidativo,	(De Groote, <i>et al.</i> , 2012)

## Introducción General

	catequina (CGSE, n=12) o 400 mg RES trifosfato (RTP, n=10), durante 28 días. Productos en cápsulas.		principalmente con CGSE y RTP. No hubo validación por RT-PCR. Marcadores de estrés oxidativo del suero por RTP y CGSE.	
Sujetos sanos (n=12).	No aleatorio. Abierto. No controlado por placebo. Ingesta diaria de 3 cápsulas con un contenido total de 6 mg RES, 300 mg extracto de uva liofilizado, 150 mg of extracto de aceite de oliva liofilizado, 9 mg licopeno, 300 mg vitamina C y 90 mg “bioflavonoides” de frutos cítricos. Seguimiento: 5 días.	Efectos contra el daño oxidativo del ADN y alteraciones del estado redox.	No se observaron efectos significativos en los parámetros de estabilidad de los linfocitos, ni en la CRP y LDLox en suero tras 5 días.	(Heger, <i>et al.</i> , 2012)
Mujeres postmenopáusicas no obesas	Aleatorio. Doble ciego. Controlado por placebo. Seguimiento: 12 semanas de consumo de RES (75 mg/día). Número de registro: NCT00823381.	Efectos metabólicos en mujeres postmenopáusicas no obesas con tolerancia a la glucosa normal	Ningún cambio en la composición corporal, tasa metabólica en reposo, lípidos del plasma o marcadores inflamatorios. No hubo aumento de la sensibilidad a la insulina en el tejido adiposo, hígado y músculo esquelético. Las dianas moleculares putativas del RES no fueron afectadas, incluyendo AMPK, SIRT1, NAMPT y PPARGC1A, en músculo esquelético o tejido adiposo.	(Yoshino, <i>et al.</i> , 2012)
101 Hombres obesos sanos	Aleatorio. Doble ciego. Controlado por placebo. Con 2 brazos en paralelo. Seguimiento: 4 semanas tomando RES o placebo.	Efectos metabólicos de altas dosis de RES en sujetos obesos.	La sensibilidad a la insulina se deterioró de manera no significativa en ambos grupos. La producción endógena de glucosa y las tasas de <i>turnover</i> y oxidación de glucosa se mantuvieron sin cambios. Ningún efecto sobre la presión arterial, gasto de energía en reposo, tasas de oxidación de lípidos, contenido de grasa ectópico o visceral, o en biomarcadores inflamatorios y metabólicos.	(Poulsen, <i>et al.</i> , 2012)
Fumadores adultos sanos	Aleatorio. Doble ciego. Cruzado. Seguimiento: pacientes distribuidos en 2 grupos, 1) 30 días con 500 mg RES/día, 30 días de lavado y 30 días de placebo, o 2) 30 días de placebo, 30 días de lavado, 30 días con 500 mg RES/día). Numero de registro: NCT01492114.	Efectos en marcadores de inflamación y de estrés oxidativo en fumadores.	Reducción significativa de las concentraciones de CRP y triglicéridos y aumento de los valores del estado antioxidante total. Variación no significativa en los valores de ácido úrico, glucosa, insulina, colesterol, enzimas hepáticas y peso, circunferencia abdominal y presión arterial.	(Bo, <i>et al.</i> , 2012)
Voluntarios con <i>acne vulgaris</i> (n=20).	No aleatorio. Con 1 grupo. Ciego. Controlado por vehículo. Administración tópica diaria en uno de los lados de la cara de cada voluntario de un hidrogel	Efectos terapéuticos del RES en la piel acneica.	La puntuación de graduación global de acne (GAGS) disminuyó un 53.7% en el lado de la cara tratado con RES. Análisis histológicos	(Fabbrocini, <i>et al.</i> , 2011)

conteniendo RES y de solamente hidrogel (vehículo) en el otro lado, durante 2 meses.

revelaron una reducción de 66.7% en el área de los micromedones. No se observaron efectos adversos.

**Tabla 1.4 (cont.).** Ensayos clínicos publicados relacionados con los efectos del RES en la salud humana.

<b>Cohorte y tamaño muestral (n)</b>	<b>Diseño del ensayo, dosis de RES y tiempo de intervención</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Sujetos sanos (sin medicación)</i></b>				
Mujeres sanas (n=15).	No aleatorio con 1 brazo. Controlado por vehículo. Aplicación tópica de 4 tipos de cremas hidratantes diferentes en 6 zonas de la región dorsal, durante 4 días. Se aplicaron a cada voluntario: RES trifosfato (RTP), RTP + mezcla antioxidante, solamente mezcla antioxidante y solamente vehículo. Los análisis histológicos fueron ciegos para los investigadores.	Efectos del RTP contra el daño causado en la piel por exposición UV.	El eritema causado por UV fue principalmente prevenido por RTP e inhibió la aparición de células quemadas y el contenido en melanina.	(Wu, <i>et al.</i> , 2012)
Mujeres sanas (n=50)	Aleatorio. Abierto. Controlado por placebo. 35 mujeres y 15 hombres. Seguimiento: 60 días tomando 1 cápsula de placebo o de un suplemento de extracto de uva (133 mg) conteniendo 8 mg RES.	Efectos tópicos y sistémicos en la piel, en el estado antioxidante de la misma y en los niveles de estrés oxidativo.	Aumento significativo de la capacidad antioxidante plasmática y poder antioxidante de la piel. Disminución del estrés oxidativo sistémico. Mejora en la hidratación y elasticidad de la piel y disminución de la aspereza y profundidad de las arrugas. Reducción significativa en la intensidad de los lentigos solares.	(Buonocore, <i>et al.</i> , 2012)

<sup>a</sup>Se indica el número de registro cuando este es facilitado. AMPK, proteína quinasa activada por AMP; ApoB, apolipoproteína B; APC, poliposis adenomatosa coli; AUC, área bajo la curva; CAD, enfermedad coronaria arterial; CCND2, gene de la ciclina D2; CVD, enfermedad cardiovascular; CYP, citocromo P450; FMD, dilatación mediada por flujo; GSE, extracto de semilla de uva; GST-1P, glutathiona S-transferasa-1P; HA<sub>1c</sub>, hemoglobina A<sub>1c</sub>; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IKKβ, inhibidor de la quinasa-β κB; INFKB, factor nuclear kappa B intranuclear; JNK, quinasa jun-N-terminal; LDLc, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; LDLox, LDL oxidadas; NFKB, factor nuclear kappa B; NQO-1, NADPH:quinona oxidoreductasa-1; Nrf-2, factor 2 relacionado con el NF-E2; NT-proBNP, prohormona N-terminal del péptido natriurético cerebral; p16, inhibidor de quinasa 2A dependiente de ciclina (CDKN2A, *p16Ink4A*); PBMC, células mononucleares de la sangre periférica; PGC-1α, coactivador 1 alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PTP-1B, fosfotirosina fosfatasa-1B; RASSF-1α, isoforma A de la familia 1 del dominio de asociación del supresor tumoral Ras; RES, *trans*-resveratrol; RTP, RES-trifosfato; SIRT1, sirtuina tipo 1; SOCS-3, supresor 3 de la señalización de citoquinas; TLR-4, receptor 4 semejante a *Toll*.

# CAPÍTULO 2

## *Objetivos*





## **2. Objetivos**

Los antecedentes expuestos anteriormente ponen de manifiesto importantes lagunas en relación con la relevancia del RES presente en la dieta como constituyente bioactivo capaz de propiciar efectos beneficiosos en personas y que contribuyan a la prevención de enfermedades, incluidas las cardiovasculares. La inmensa mayoría de estudios con RES en personas se han llevado a cabo aplicando un enfoque farmacológico, con dosis muy elevadas, normalmente inalcanzables con la dieta, y/o con tiempos de exposición relativamente cortos. Sin embargo, y a pesar de las continuas alusiones a los presuntos beneficios del RES en personas, especialmente vinculado al consumo de vino tinto, la realidad es que su presencia en la dieta es despreciable y no se ha podido establecer aún un balance riesgo/beneficio en personas debido al diseño de los estudios realizados hasta la fecha. Es decir, aún no se sabe si el consumo de este polifenol, como parte de la dieta o como complemento de la misma a dosis bajas, puede ejercer beneficios a largo plazo y sin efectos secundarios.

Considerando todo lo anterior, el objetivo principal de la presente Tesis Doctoral es evaluar si el consumo diario de dosis bajas (más cercanas a valores dietéticos) de RES a largo plazo (un año) es eficaz y seguro en la prevención y/o reducción del riesgo cardiovascular. Además, para evaluar efectos secundarios o interacción con fármacos, los ensayos se realizarán en pacientes polimedcados. El reto es importante, pues implica evaluar en un año, a través de la dieta, efectos “preventivos o complementarios” en pacientes que ya están óptimamente tratados para su enfermedad. Se usará un suplemento nutracéutico de extracto de uva rico en RES, obtenido bajo patente del

CSIC, y disponible comercialmente. Además, intentaremos averiguar hasta qué punto es relevante la presencia del RES frente al resto de polifenoles de la uva, mucho más abundantes.

En este contexto, se ha dividido el objetivo principal en los siguientes dos objetivos específicos:

1. Se pretende determinar el posible efecto preventivo o modulador del extracto de RES en pacientes de prevención primaria con riesgo cardiovascular y establecer si se obtienen beneficios adicionales más allá de los obtenidos por la medicación estándar sobre marcadores de riesgo cardiovascular bien establecidos. Para ello haremos un ensayo clínico aleatorio, de un año de duración, triple-ciego, placebo-controlado, dosis-respuesta, en pacientes sin enfermedad cardiovascular establecida pero tratados según guías establecidas al tener un elevado riesgo de sufrir eventos cardiovasculares (pacientes en prevención primaria de riesgo cardiovascular). El posible efecto preventivo se evaluará a través de la medición de una batería de marcadores de riesgo cardiovascular (inflamación, fibrinólisis y aterosclerosis) en 3 puntos temporales: i) el día anterior al inicio de la ingesta; ii) cuando se hayan completado 6 meses (1 cápsula/día); iii) al final del experimento, cuando se hayan completado 12 meses (2 cápsulas/día los 6 meses finales). Para descartar efectos adversos y/o interacción con fármacos debido a la ingesta de las cápsulas con el suplemento de uva enriquecido en RES se evaluará la función hepática, renal y tiroidea de los pacientes.
2. De forma similar, el segundo objetivo de esta Tesis será determinar si el consumo continuado del extracto de RES tiene efectos positivos sobre pacientes

## **Objetivos**

con enfermedad arterial coronaria establecida antes de la fecha de inicio del estudio, que corren serio riesgo de recurrencia y por tanto, están tratados de acuerdo a las guías correspondientes (pacientes en prevención secundaria de riesgo cardiovascular). Los posibles efectos beneficiosos, dosis-respuesta y adversos se evaluarán siguiendo, en general, el mismo protocolo usado para el punto 1.

3. El tercer y último objetivo de esta Tesis consiste en intentar establecer algunos de los posibles mecanismos de acción *in vivo* del extracto de RES. Para ello investigaremos específicamente el efecto de la ingesta del extracto en los niveles de expresión de genes y microRNA en células mononucleares de sangre periférica de una subpoblación de enfermos diabéticos-hipertensos procedentes de prevención secundaria. El análisis de los posibles cambios moleculares inducidos en estas células proporcionará nuevas pistas sobre los mecanismos moleculares de respuesta del organismo al consumo de RES.



# CAPÍTULO 3

*Material y Métodos*



## **3. Material y Métodos**

### **3.1. Ensayos clínicos**

#### **3.1.1. Definición**

Las autoridades reguladoras españolas de acuerdo con el artículo 58 de la Ley 29/2006 de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios de 26 julio de 2006 y el artículo 2 del Real Decreto 223/2004 de 6 de febrero de 2004 entienden por Ensayo Clínico: “toda investigación efectuada en seres humanos, con el fin de determinar o confirmar los efectos clínicos, farmacológicos, y/o demás efectos farmacodinámicos, y/o de detectar las reacciones adversas, y/o de estudiar la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de uno o varios medicamentos en investigación con el fin de determinar su seguridad y/o su eficacia”. Un medicamento en investigación, según dicho Real Decreto, es “una forma farmacéutica de una sustancia activa o placebo que se investiga o se utiliza como referencia en un ensayo clínico, incluidos los productos con autorización de comercialización cuando se utilicen o combinen (en la formulación o en el envase) de forma diferente a la autorizada, o cuando se utilicen para tratar una indicación no autorizada, o para obtener más información sobre un uso autorizado”.

### **3.1.2. Bioética**

Es necesario que cualquier investigación médica que comporte el estudio de personas cumpla con una serie de requisitos éticos claramente establecidos en la Declaración de Helsinki. Esta declaración, redactada por la Asociación Médica Mundial en 1964, fue el primer documento que propuso criterios y medidas para proteger a los individuos que participan en la investigación biomédica. Sus principios fundamentales consisten en la necesidad de que el protocolo de ensayo clínico sea aprobado por un Comité de Ética y la necesidad de obtener el consentimiento informado previo, libre e informado del paciente. En cualquier ensayo clínico con voluntarios sanos o con enfermos, es importante considerar los aspectos éticos del estudio, por ello, todo protocolo de ensayo clínico debe ser evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC), un organismo independiente constituido por profesionales sanitarios y miembros no sanitarios, encargado de velar por la protección de los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos que participan en un ensayo clínico, y de proporcionar una garantía pública al respecto mediante, entre otras, la evaluación y emisión de un dictamen referente al protocolo del ensayo, la idoneidad del investigador, la adecuación de las instalaciones, los métodos y materiales que serán utilizados para obtener y documentar el consentimiento informado de los sujetos del ensayo ([http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionBPC/docs/guia-BPC\\_octubre-2008.pdf](http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionBPC/docs/guia-BPC_octubre-2008.pdf)). El informe final emitido por el CEIC se presenta más abajo (**Figura 3.1**).

### **3.1.3. Diseño, reclutamiento y seguimiento**

Se propuso el realizar dos ensayos clínicos aleatorios en paralelo. Ambos ensayos fueron triple ciego (médicos, pacientes, y personal científico encargado de las



## Material y Métodos

mediciones y análisis estadístico desconocían la codificación de los productos objeto de estudio) y controlados por placebo. Uno de los ensayos se llevó a cabo en pacientes de prevención primaria (PP) y el otro en pacientes de prevención secundaria (PS). El reclutamiento se llevó a cabo en la consulta externa de la Unidad de Cardiología del Hospital Morales Meseguer (Murcia) y en Centros de Salud adheridos a su área. Estos ensayos se han registrado en <http://clinicaltrials.gov> con el número NCT01449110.

En función de la concentración efectiva de estilbenos (sobre todo RES) en los extractos, se pretendía una ingesta equivalente al día de al menos 8 mg durante los primeros 6 meses y de 16 mg durante los 6 meses siguientes con el fin de evaluar un posible efecto dosis-respuesta; esto se consiguió con la ingesta de una y dos cápsulas diarias, respectivamente. Se calculó el número de cápsulas que cada paciente necesitaría para completar el estudio y estas se proporcionaron en su totalidad antes del comienzo de la suplementación. Se pidió a los pacientes que devolvieron las cápsulas restantes al final del estudio para que se estimara el porcentaje de cumplimiento (número de cápsulas ingeridas/ número de cápsulas total x 100).

Tanto los pacientes de PP como los de PS fueron distribuidos en 3 grupos (**Figura 3.2**). Uno de los 3 grupos de ambos tipos de prevención consumió cápsulas sin extracto de uva (placebo), otro grupo tomó cápsulas con extracto de uva sin RES (grupo GE) y el otro consumió cápsulas con extracto de uva enriquecido con RES (grupo GE-RES). La duración de la intervención efectiva fue de 1 año, si bien el proceso completo (reclutamiento, intervención, procesado y análisis de muestras) llevó dos años y medio aproximadamente. Se realizaron las distintas determinaciones propuestas en el día anterior a la toma de la primera cápsula y, después, tras 6 y 12 meses del comienzo de la intervención. No se plantearon más determinaciones por la gran cantidad de muestras que supondría y el alto coste asociado al precio de los marcadores seleccionados.

### **3.1.3.1. Historia clínica**

A todos los participantes se les realizó una historia clínica completa, donde se recogieron todos los datos referentes a consumo de alcohol, enfermedades previas, tabaquismo, consumo de fármacos (tipo y dosis). También se les determinó la presión arterial, la frecuencia de pulso, perímetro de cintura, peso y talla.

### **3.1.3.2. Cuestionarios dietéticos**

A través de un cuestionario entregado durante el período de reclutamiento se pidió a los voluntarios que indicasen el tipo de dieta seguido normalmente (**Figura 3.3**). Además, se les pidió que informasen sobre la ingesta de otros suplementos alimenticios (definido como un criterio de exclusión). Posteriormente, cada tres meses desde el comienzo del ensayo se solicitó a los pacientes (bien por teléfono o a través de cuestionarios de seguimiento (**Figura 3.4**)) que indicaran posibles incidencias durante el transcurso del ensayo y consumo de otros suplementos alimenticios (recordándoles que dicho consumo implicaría automáticamente su exclusión del estudio). A lo largo del ensayo ningún voluntario comunicó la ingesta de cualquier otro tipo de suplemento dietético.

### **3.1.3.3. Criterios de inclusión**

En el grupo de estudio de PP los criterios de inclusión establecidos fueron los siguientes:

- 1) Ausencia de enfermedad cardiovascular documentada (entendiendo como tales los accidentes cerebrovasculares, síndromes coronarios agudos, cardiopatía isquémica estable o arteriopatía periférica) y,
- 2) Edad entre 18 y 80 años y,

## Material y Métodos

3) Los anteriores criterios unidos a la presencia de *diabetes mellitus* o bien al menos dos de los factores de riesgo descritos a continuación:

- a) Tabaquismo activo (consumo de 10 cigarrillos o más al día) o,
- b) Hipertensión arterial ( $\geq 140/90$  mmHg) o,
- c) Hipercolesterolemia (LDL-colesterol  $>130$  mg/dL y/o HDL-colesterol  $< 45$  mg/dL en mujeres y 50 mg/dL en varones), o
- d) Obesidad ( $IMC > 30$  kg/m<sup>2</sup>).

En el grupo de PS se incluyeron pacientes en los que hubiera transcurrido entre 6 meses y un año desde el diagnóstico de síndrome coronario, accidente cerebrovascular o isquemia arterial periférica. Además deberían cumplir los siguientes requisitos:


- 1) Edad entre 18 y 80 años y,
- 2) Fracción de eyección de ventrículo izquierdo  $\geq 45\%$  y,
- 3) Estado funcional I o II de la *New York Heart Association* y,
- 4) Estabilidad clínica en el momento de inclusión (sin signos ni síntomas de insuficiencia cardíaca ni episodios de dolor torácico en el último mes) y,
- 5) En aquellos pacientes con enfermedad coronaria sometidos a cateterismo, ausencia de lesiones residuales significativas sin revascularizar.

### **3.1.3.4. Consentimientos informados**

Uno de los documentos esenciales para la realización de un ensayo clínico es el consentimiento informado, proceso por el cual un sujeto confirma voluntariamente su decisión de participar en un ensayo determinado después de haber sido informado debidamente de todos los aspectos del ensayo que son relevantes para la decisión de participar del sujeto (<http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionBPC/docs/guia->

BPC\_octubre-2008.pdf). Las hojas de información entregadas a los voluntarios y los consentimientos escritos correspondientes se presentan en las **Figuras 3.5-3.9**.

 **m**orales **m**eseguer  
Hospital General Universitario

 Servicio Murciano de Salud

**INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA.**

**D<sup>a</sup>. ROSA MARIA RAMOS GUEVARA y D<sup>a</sup>. MARIA DOLORES NAJERA PEREZ COMO PRESIDENTA Y SECRETARIA DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO "J. M<sup>a</sup> MORALES MESEGUER", DE MURCIA**

**CERTIFICAN:**


Que tras la valoración del ensayo 02/07: **"Resveratrol de la dieta como constituyente cardioprotector. Biodisponibilidad, metabolismo, expresión génica y función cardiovascular en cerdos y humanos"**, en la reunión ordinaria del día 28 de febrero se solicitaron aclaraciones, las cuales fueron aceptadas, concendiéndose el aval para la realización de dicho proyecto de investigación.

**Código: AGL2007-60576**  
**Investigador principal: Dr. Juan Carlos Espín de Gea.**  
**Dep. Ciencia y Tecnología de Alimentos.**  
**CEBAS-CSIC. Murcia.**

Considera que:

Son adecuados los procedimientos técnicos utilizados y que no vulneran la normativa ética vigente. Por tanto concede el aval ético solicitado.

Lo que firman en Murcia, a 9 de marzo de 2007

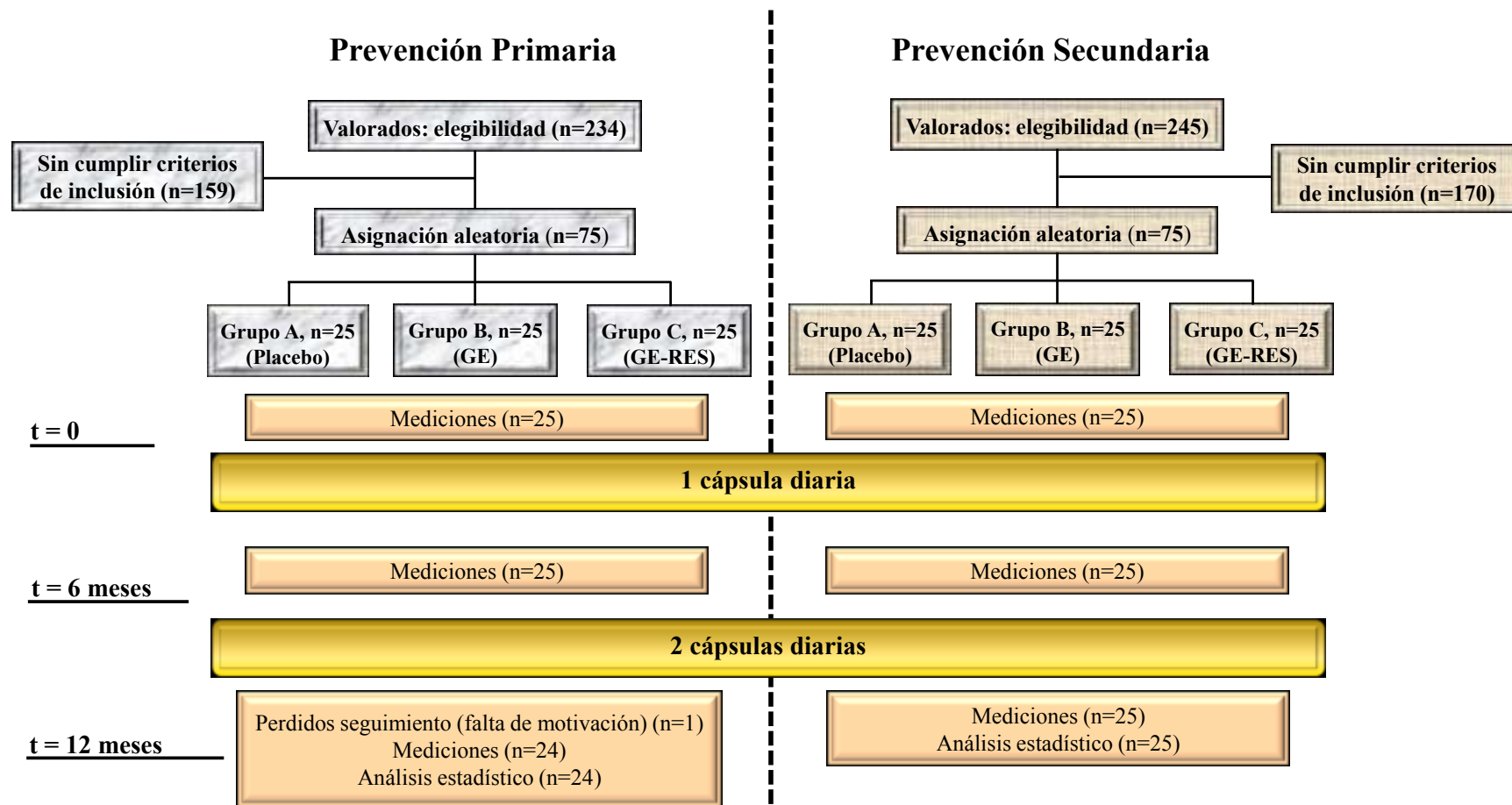
  
Fdo.: Dra. Rosa M<sup>a</sup> Ramos Guevara  
Presidenta

  
Fdo.: Dra. M<sup>a</sup> Dolores Nájera  
Secretaria

M.M. 12

C/. Marqués de los Vélez, s/n • Teléf. 968 36 09 00 • Fax. 968 23 24 84 • 30008 MURCIA

**Figura 3.1.** Informe de valoración del ensayo clínico propuesto emitido por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC).



**Figura 3.2.** Diagrama de flujo de los sujetos participantes en las diferentes fases de los 2 ensayos clínicos llevados a cabo en paralelo.

<b>CUESTIONARIO INICIAL</b>			
<b><u>Nombre codificado del paciente:</u></b>			
<b><u>Nombre del cardiólogo:</u></b>			
¿Toma habitualmente complementos alimenticios?:			
		SI	NO
<b>Preparaciones de herboristería para alguna indicación</b>			
Especifique por favor _____			
<b>Pastillas 'antioxidantes'</b>			
Especifique por favor _____			
<b>Pastillas de ácidos grasos Omega-3, 6, etc.</b>			
Especifique por favor _____			
<b>Otros</b>			
Especifique por favor _____			
¿Con qué frecuencia come alguno de los siguientes alimentos?:			
(Si no consume estos alimentos, deje en blanco la casilla)			
	Diariamente	Semanalmente	Mensualmente
<b>Uvas o productos derivados de uvas</b>			
<b>Vino: Por favor especifique el tipo de vino (blanco, rosado, tinto) y con qué frecuencia</b>	Ej.: 1 vaso de vino tinto		
<b>Otras frutas o zumos (por favor especifique)</b>			
<b>Verduras (por favor especifique)</b>			
<b>Productos lácteos (leche, yogur, etc.)</b>			
<b>Carne roja (ternera, cordero, cerdo)</b>			
<b>Carnes blancas (aves de corral, conejo)</b>			
<b>Pescado</b>			
<b>Té negro/verde; café (especificar)</b>			

**Figura 3.3.** Cuestionario inicial donde los voluntarios indicaron sus hábitos alimenticios y el posible consumo de otros complementos alimenticios.

## Material y Métodos

### CUESTIONARIO DE SEGUIMIENTO

Especificar período (subraye): 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses

Nombre codificado del paciente:

Nombre del cardiólogo:

Con respecto a los últimos 3 meses:

¿Ha tenido cambios relevantes en sus hábitos dietéticos? \_\_\_\_\_ (si/no)

En caso afirmativo, por favor especifique \_\_\_\_\_

¿Ha tenido alguna interrupción temporal de la ingesta de la(s) cápsula(s)? \_\_\_\_\_ (si/no)

En caso afirmativo, por favor especifique \_\_\_\_\_

¿Ha tenido alguna reacción adversa?:

¿Problemas digestivos (intolerancia, dispepsia, diarrea, estreñimiento)? \_\_\_\_\_ (si/no)

En caso afirmativo, por favor especifique \_\_\_\_\_

¿Alergia? \_\_\_\_\_ (si/no)

¿Fiebre? \_\_\_\_\_ (si/no)

¿Náusea? \_\_\_\_\_ (si/no)

¿Dolor muscular? \_\_\_\_\_ (si/no)

¿Ha usted...:

...bebido vino tinto? \_\_\_\_\_ (si/no)

En caso afirmativo, por favor especifique \_\_\_\_\_

...comido uvas o productos derivados de la uva? \_\_\_\_\_ (si/no)

En caso afirmativo, por favor especifique \_\_\_\_\_

...tomado suplementos alimenticios (productos de herboristería, pastillas 'antioxidantes', ácidos grasos omega-3, etc.)? \_\_\_\_\_ (si/no)

En caso afirmativo, por favor especifique \_\_\_\_\_

**ATENCIÓN!:**

**Figura 3.4.** Cuestionario de seguimiento donde los voluntarios indicaron cambios relevantes en sus hábitos alimenticios, interrupciones en la toma de las cápsulas del estudio, eventuales reacciones adversas, el consumo de otros complementos alimenticios y de productos derivados de la uva.

## ***HOJA DE INFORMACIÓN-1***

Solicitamos de Ud. su colaboración para el desarrollo de un estudio dentro del Proyecto de Investigación **“Resveratrol de la dieta como constituyente cardioprotector. Biodisponibilidad, metabolismo, modulación de la expresión génica y función cardiovascular en cerdos y humanos” (CICYT-BFU2007-60576).**

El objetivo del trabajo es evaluar el posible efecto beneficioso de una cápsula que contiene extracto de uva enriquecido en *resveratrol*, una sustancia natural presente en la uva, en pacientes con riesgo cardiovascular.

El Riesgo Cardiovascular (RCV) es la probabilidad de presentar una enfermedad coronaria o cardiovascular en un periodo de tiempo determinado (generalmente de 5 o 10 años). Existen unos factores de riesgo «*modificables*» (tabaco, alcohol, obesidad, hipertensión arterial, sedentarismo, hipertrofia ventricular izquierda, proteinuria o las alteraciones lipídicas) y factores de riesgo «*no modificables*» (edad, género masculino, herencia, historia personal de enfermedad coronaria o la diabetes mellitus). Si bien las modernas terapias agresivas contra las enfermedades cardiovasculares son una ayuda en el tratamiento contra la enfermedad, únicamente las medidas preventivas pueden suponer un auténtico freno al desarrollo de la arterosclerosis. Por tanto, los esfuerzos han de dirigirse a evitar la aparición de la arterosclerosis o al menos en evitar sus complicaciones (síndromes coronarios agudo e ictus) para ello, se debe hacer hincapié en el control de los factores de riesgo clásicos (diabetes, tabaco, hipercolesterolemia, hipertensión) mediante campañas de detección precoz, tratamiento optimizado y farmacológico y ante todo con un cambio en los estilos de vida que incluyan más deporte y una dieta saludable. En este último aspecto, se debe moderar el consumo de sal, azúcares refinados, grasas saturadas, carnes rojas y procesadas y fomentar el consumo de pescado, frutas, verduras y aceite de oliva, máximos exponentes de la dieta mediterránea.

Dentro del Proyecto de Investigación en el que se integra, este estudio será desarrollado por personal del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del CEBAS-CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), de la Unidad de Cardiología del Hospital General Universitario Morales Meseguer y del Centro de Hemodonación de la Región de Murcia.

La participación consistirá en la ingesta diaria de una cápsula 7 días por semana, durante los primeros 6 meses del estudio, y de dos cápsulas diarias en los 6 meses siguientes. El ensayo clínico tendrá una vigencia de 1 año. Durante este tiempo, serán citados en consulta 3 veces (al inicio, a los 6 y 12 meses) para extraerles sangre y someterles a un reconocimiento (no invasivo). La sangre (siempre de forma anónima y bajo conocimiento exclusivo del personal médico) será utilizada para:





- La determinación de una serie de marcadores sanguíneos que indican el estadio inflamatorio y de riesgo de trombosis del paciente. En algunos pacientes, que previamente hayan dado su consentimiento, también se determinarán, mediante técnicas ecográficas, no invasivas, la placa de ateroma y grosor de la pared de algunas arterias. También se evaluará el grado de recuperación de vasos sanguíneos del brazo tras someterlo a una compresión.
- En algunos pacientes, con consentimiento firmado específico a tal efecto (**Hoja de Información-2 y Consentimiento por Escrito-2**), también se determinará el perfil de expresión de genes (en linfocitos de la sangre) y cómo se afecta esta expresión tras el consumo de la cápsula ingerida.

Los pacientes serán distribuidos en TRES grupos: un grupo recibirá placebo (cápsula sin incorporar extracto de uva); otro grupo recibirá una cápsula con extracto de uva pero sin contener la sustancia natural objeto de estudio; y un tercer grupo que recibirá una cápsula con extracto de uva enriquecido en la sustancia a estudiar (*resveratrol*).

Todos sus datos personales tendrán manejo estrictamente confidencial, de forma que ningún dato personal que permita su identificación será accesible a ningún otro que no sea su médico.

Su aportación es clave para el desarrollo del Proyecto, por lo que le agradecemos de antemano su colaboración.

**Dr. Juan Carlos Espín de Gea.**  
Investigador Principal del Proyecto.  
Dept. Ciencia y Tecnología de Alimentos.  
CEBAS-CSIC. Murcia.

**Figura 3.5.** Hoja de Información General 1 entregada a los voluntarios del estudio.

## CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del ensayo: **“Resveratrol de la dieta como constituyente cardioprotector. Biodisponibilidad, metabolismo, modulación de la expresión génica y función cardiovascular en cerdos y humanos”.**

Yo, D.

..... con DNI: .....

(Nombre del paciente)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido información suficiente sobre el estudio.
- Mi participación consiste en ingerir una cápsula diaria, 7 días a la semana, durante los primeros 6 meses, y dos cápsulas diarias en los 6 meses siguientes, y proveer al estudio con muestras de sangre.
- También podré ser requerido a participar (sólo algunos pacientes) en pruebas ecográficas no invasivas.

He hablado con Dr.....

(Nombre del médico)

- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que mi participación puede aportar información científica que podría resultarme beneficiosa.
- Comprendo que si acepto participar es para intentar completar el estudio.
- Aún así, comprendo que si lo deseo, puedo retirarme del estudio cuando quiera.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fdo:

Fecha:

**Investigador Principal:** Dr. Juan Carlos Espín de Gea.  
**Médicos que participan en el estudio:** Dres. José Antonio Ruiz Ros, Francisco José García Almagro, Manuel González Ortega, y María Luisa Lozano Almela.

**Figura 3.6.** Consentimiento por escrito relativo a la Hoja de Información General 1, que los voluntarios tuvieron que firmar para poder participar en el ensayo clínico.



## HOJA DE INFORMACIÓN-2

### ESTUDIO SOBRE LA EXPRESIÓN GÉNICA

Solicitamos de Ud. su colaboración para el desarrollo de un estudio dentro del Proyecto de Investigación ***“Resveratrol de la dieta como constituyente cardioprotector. Biodisponibilidad, metabolismo, modulación de la expresión génica y función cardiovascular en cerdos y humanos”***.

Como complemento a la HOJA DE INFORMACIÓN general (hoja de información-1), se adjunta ésta referida específicamente al estudio sobre la expresión génica de células sanguíneas.

El objetivo de este ensayo es evaluar el efecto tras la ingesta de la cápsula que contiene el extracto de uva en la expresión de genes que pudieran estar implicados en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

Con la sangre extraída a los distintos tiempos establecidos, se aislarán linfocitos en los cuales se evaluará su perfil génico. Los datos obtenidos, en ningún caso, se utilizarán fuera de este proyecto ni para otro propósito del indicado aquí, y siempre con el consentimiento firmado del paciente y bajo la supervisión del personal médico implicado.

**Dr. Juan Carlos Espín de Gea.**  
Investigador Principal del Proyecto.  
Dept. Ciencia y Tecnología de Alimentos.  
CEBAS-CSIC. Murcia.

**Figura 3.7.** Hoja de Información complementaria a la Hoja de Información General, referida específicamente al estudio de expresión génica, entregada a los voluntarios del estudio.

## CONSENTIMIENTO POR ESCRITO-2

Título del ensayo: **“Resveratrol de la dieta como constituyente cardioprotector. Biodisponibilidad, metabolismo, modulación de la expresión génica y función cardiovascular en cerdos y humanos”.**

Yo, D.

..... con DNI: .....

(Nombre del paciente)

- He leído la hoja de información-2 relativa al estudio de la expresión génica que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido información suficiente sobre el estudio.
- Mi participación consiste en ingerir cápsula diaria, 7 días a la semana, durante los primeros 6 meses, y dos cápsulas diarias en los 6 meses siguientes y proveer al estudio con muestras de sangre en las cuales se determinará el perfil génico en linfocitos de sangre para determinar el efecto de la cápsula ingerida en la expresión de estos genes.
- La información obtenida de este estudio sólo será usada dentro de este proyecto y para ningún otro propósito del especificado.

He hablado con Dr. ....

(Nombre del médico)

- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que mi participación puede aportar información científica que podría resultarme beneficiosa.
- Comprendo que si acepto participar es para intentar completar el estudio.
- Aún así, comprendo que si lo deseo, puedo retirarme del estudio cuando quiera.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fdo:

Fecha:

**Investigador Principal:** Dr. Juan Carlos Espín de Gea.  
**Médicos que participan en el estudio:** Dres. José Antonio Ruiz Ros, Francisco José García Almagro, Manuel González Ortega, y María Luisa Lozano Almela.

**Figura 3.8.** Consentimiento por escrito, relativo a la Hoja de Información complementaria, que los voluntarios tuvieron que firmar para poder participar en la parte de expresión génica del ensayo clínico.



## HOJA DE INFORMACIÓN-3

### **POSIBLES EFECTOS ADVERSOS DERIVADOS DE LA INGESTA DEL PRODUCTO A ESTUDIAR.**

No se conocen efectos adversos relacionados con la ingesta de extracto de uva ni en relación al resveratrol que contiene dicho extracto.

**-Los extractos de uva utilizados en el estudio saldrán al mercado próximamente y han superado la evaluación por parte de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN).**

-El resveratrol, que se consume en la dieta a través de la uva y del vino tinto, ha superado los ensayos de Fase I de absorción y seguridad (ya está en Fase II y III) en EEUU (nº de protocolo UCI 05-20; Chao Family Comprehensive Cancer Center at University of California Irvine Medical Center, EEUU).

Los extractos de uva usados en este estudio han sido minuciosamente analizados para descartar cualquier tipo de riesgo microbiológico, contaminación por metales, exceso de fitosanitarios, presencia de sulfitos, etc.

No se han encontrado efectos adversos en consumos crónicos equivalentes a 3-4 gramos de ingesta/día en el hombre (más de 1000 veces a las usadas en este ensayo):

-Juan, M. E., Vinardell, M. P. & Planas, J. M. The daily oral administration of high doses of *trans*-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J. Nutr.* 132, 257–260, 2002.

-Hebbar, V. *et al.* Toxicogenomics of resveratrol in rat liver. *Life Sci.* 76, 2299–2314 (2005).

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria también recoge en varias de sus Memorias anuales diversos estudios realizados sobre este tema:

-Valverde, C.; Barea, M.; Pollastrini, M. T.; Pérez-Labad, M.L.; Escaso-Salguero, M. y Sanz, F.: "Estudio de Toxicidad del Resveratrol". *Revista de Toxicología*. Vol. 18, nº 3 (2001).

-Valverde, C.; Barea, M.; Pollastrini, M. T.; Pérez-Labad, M.L.; Escaso Salguero, M. y Sanz, F.: "Resveratrol: Ensayo de mutación inversa". *Revista de Toxicología*. Vol. 18. Nº 3 (2001).

-García, O.; Barea, M.; Pollastrini, MT.; Pérez, ML.; Escaso, M. Y Sanz, F. "Efecto del Resveratrol sobre la capacidad mutagénica del Captán". Abstracts 11ª Reunión Científica del SEMA (Julio 2002).

-García, O.; Barea, M.; Pollastrini, MT.; Pérez, ML.; Escaso, M. And Sanz, F.: Resveratrol: antimutagenic effect. Abstracts 18th European Workshop on drug metabolism. European Society of Biochemical Pharmacology. (Septiembre 2002).

-Baur et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, 444, 337-342.

-No se conoce interacción negativa con medicinas en general ni con las relacionadas en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares en particular.

**Investigador Principal:** Dr. Juan Carlos Espín de Gea.

**Médicos que participan en el estudio:** Dres. José Antonio Ruiz Ros, Francisco José García Almagro, Manuel González Ortega, y María Luisa Lozano Almela.

**Figura 3.9.** Hoja de Información 3 entregada a los voluntarios del estudio, relativa a los posibles efectos adversos derivados de la ingesta del producto a estudiar.

### **3.1.4. Productos objeto de estudio**

#### **3.1.4.1. Extractos de uva con y sin resveratrol**

Los extractos de uva usados en la presente Tesis Doctoral fueron suministrados por la empresa Laboratorios *Actafarma S.L.*, licenciataria de la patente del CSIC 2 177 465 (Tratamiento Poscosecha en Frutas y Hortalizas Mediante Pulsos de Irradiación Ultravioleta). El proceso está basado en la fotoestimulación de uva recolectada mediante luz UVC para la inducción selectiva de estilbenos, especialmente RES (Cantos, *et al.*, 2000, 2001, 2002a, 2003a, 2003b, González-Barrio, *et al.*, 2005, 2006b). El tratamiento UVC no afecta significativamente al resto del contenido polifenólico (Cantos, *et al.*, 2000, 2002a, 2003a, 2003b) y por tanto, los extractos se diferencian fundamentalmente en el contenido de estilbenos, especialmente RES.

##### **3.1.4.1.1. Extracción, identificación y cuantificación de compuestos fenólicos**

Se homogeneizaron 20 mg de cada extracto de uva en metanol conteniendo ácido fórmico (99:1; v:v), se agitaron (30 s), se sonicaron (2 min) y se centrifugaron a 5000g durante 5 min en una centrífuga *Centromix* (Selecta, Barcelona). Los sobrenadantes se filtraron a través de filtros de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  *Millex-HV13* (Millipore Corporation, EEUU) y se analizaron (20  $\mu\text{L}$ ) por HPLC-MS/MS. El sistema HPLC estaba compuesto por un detector UV-Vis con red de diodos (DAD) y un detector de masas (MS) acoplado en serie. El equipo consistía en una bomba binaria de G1322A, un automuestreador G1313A, un desgasificador de G1322, un detector con red de diodos G1315 B y un espectrómetro de masas de trampa de iones equipado con ionización por electrospray (ESI) y controlado por el *software* (v.4.0.025) de *Agilent Technologies* (Waldbronn, Alemania). El tubo capilar se mantuvo a 350 °C y a un voltaje de 4 kV. Se

## Material y Métodos

midieron los espectros de masas (MS) y fragmentos hijo (MS-MS) de  $m/z$  100 a 1500. Se realizaron experimentos de fragmentación inducida por colisión en la trampa de iones utilizando helio como el gas de colisión, y se fijó la energía de colisión al 50%. Los datos de espectrometría de masas fueron adquiridos en el modo negativo para todos los compuestos fenólicos excepto las antocianinas, que fueron en el modo positivo.

La separación se realizó en una columna de fase reversa *LiChrocart C18* (Merck, Darmstadt, Alemania) de 250 x 4 mm, y 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula, con agua:ácido fórmico (95: 5 v:v) (A) y metanol (B) como fases móviles. Se utilizó un gradiente lineal comenzando con 3% B hasta alcanzar 5% B a los 5 min, 8% B a los 10 min, 13% B a los 15 min, 15% B a los 19 min, 40% B al minuto 47, 65% B al minuto 64, 98% B en el minuto 66, 98% B en el minuto 69 y 3% B en el minuto 70. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min, y los cromatogramas se registraron a 280, 320, 360 y 510 nm. Los antocianos, flavonoles, flavan-3-oles, ácidos hidroxicinámicos y estilbenos fueron identificados por sus espectros UV, tiempos de retención y datos de MS y MS-MS (Cantos, *et al.*, 2002b). Los oligómeros de procianidinas fueron evaluados usando la opción de cromatograma de ion extraído (EIC). Los antocianos se cuantificaron por comparación con un estándar externo de cianidina 3-rutinósido a 510 nm; los flavonoles como quercetina 3-rutinósido a 360 nm; los derivados del ácido hidroxicinámico como ácido clorogénico a 320 nm y los estilbenos como RES a 320 nm (todos estos patrones fueron obtenidos de Sigma, St. Louis, MO, EEUU).

### **3.1.4.1.2. HPLC-MS de fase normal para la evaluación de procianidinas**

Para separar las procianidinas, se llevó a cabo el análisis de fase normal descrito por Kelm y colaboradores (Kelm, *et al.*, 2006). Se utilizó el mismo equipo de HPLC-MS descrito anteriormente. Se utilizó una columna *Develosil diol* (250 x 4.6 mm, i.d., 5

µm) (Phenomenex, Torrance, CA, EEUU). Los disolventes utilizados como fase móvil fueron acetonitrilo/ácido acético (CH<sub>3</sub>CN/HOAc) (98:2, v:v) (A) y MeOH/H<sub>2</sub>O:HOAc (95:3:2, v:v:v) (B). Se utilizó una elución de gradiente lineal con una velocidad de flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de 20 µL. El gradiente comenzó con 0% de B hasta alcanzar 40% después de 35 minutos. La elución fue isocrática entre 35 y 45 min. La detección de luz UV se fijó a 280 nm y la detección de fluorescencia a 276 nm (excitación) y a 316 nm (emisión) (Kelm, *et al.*, 2006). El sistema también estaba acoplado al mismo detector de MS anterior.

#### **3.1.4.1.3. Procedimiento usando floroglucinol para el análisis de procianidinas**

Se trataron los extractos de uva (0,8 g) con una solución de 0,1 N HCl en MeOH conteniendo 5 g/L de floroglucinol y 10 g/L de ácido ascórbico a 50 °C durante 10 minutos y luego combinados con 1,2 mL de acetato de sodio acuoso para detener la reacción (Kennedy & Jones, 2001). Los aductos de floroglucinol se analizaron por HPLC de fase reversa. La columna fue la misma descrita anteriormente protegida por una columna de protección conteniendo la misma fase estacionaria. El método utilizó un gradiente binario con una fase móvil conteniendo ácido acético acuoso al 1% v:v (fase móvil A) y MeOH (fase móvil B). Los picos de elución se monitorizaron a 280 nm. La elución se realizó con 5% B isocrático durante 10 minutos; luego se usó un gradiente lineal para llegar al 20% B en 20 minutos y al 40% en 25 minutos. La velocidad de flujo fue de 1,0 mL/min y el volumen de inyección de 20 µL. La columna se lavó con 90% B durante 10 minutos y seguidamente se re-equilibró con 5% B durante 5 minutos antes de la siguiente inyección.



### **3.1.4.2. Cápsulas suministradas a los pacientes**

Los extractos de uva con (GE-RES) y sin (GE) RES, así como la maltodextrina (placebo), suministrados por Laboratorios *Actafarma S.L.*, fueron analizados por otros laboratorios independientes para descartar riesgo microbiológico, exceso de fitosanitarios, etc. Así, las muestras se enviaron al Centro Tecnológico Nacional de la Conserva (CTC) (Molina de Segura, Murcia), a Laboratorios *Ecosur* (Lorquí, Murcia) y a Laboratorios *Munuera* (Alcantarilla, Murcia). Se realizó un estudio exhaustivo para evaluar contenido residual de más de 100 fitosanitarios, mohos, levaduras, aerobios mesófilos, bacterias lácticas, coliformes totales, *E. coli*, *Salmonella* spp, aflatoxinas (B1, B2, G1, G2), ocratoxina A, sulfitos, derivados furfúricos, metales pesados y residuos de disolventes (metanol, etanol, acetato de etilo). Además, se realizó un análisis nutricional básico incluyendo proteínas, grasas, carbohidratos, cenizas y fibra dietética.

Los productos objeto de estudio se encapsularon en cápsulas idénticas de gelatina dura (370 mg), conteniendo 350 mg del producto correspondiente y 20 mg de los excipientes estearato de magnesio y SiO<sub>2</sub>. El extracto de uva rico en RES es el ingrediente clave (Stilvid<sup>®</sup>) en la formulación de los nutracéuticos disponibles comercialmente Revidox<sup>®</sup> y Stilvid-Cardio<sup>®</sup> (Actafarma S.L.), este último, de reciente aparición en el mercado, y que ha sido respuesta a los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral.

Los extractos de uva (GE y GE-RES) usados en los ensayos clínicos que se describirán a continuación poseen un contenido polifenólico por cápsula bastante parecido, es decir, ~40 mg de procianidinas, ~25 mg de antocianinas, ~1 mg de flavonoles y ~0,8 mg de ácidos hidroxycinámicos; **Tablas 3.1 y 3.2**).

**Tabla 3.1.** Composición fenólica de los extractos de uva utilizada en el presente ensayo (GE y GE-RES).

<b>Compuesto fenólico</b>	<b>GE (1 cápsula)</b>	<b>GE-RES (1 cápsula)</b>
Dp-3-glc	2,1±0,4	1,5±0,3
Cy-3-glc	2,1±0,5	1,7±0,2
Pt-3-glc	2,3±0,4	2,1±0,3
Pn-3-glc	5,5±0,6	3,9±0,2
Mv-3-glc	12,1±1,2	10,3±0,9
Dp- <i>p</i> -coum	0,5±0,02	*
Cy- <i>p</i> -coum	0,3±0,02	*
Pn- <i>p</i> -coum	0,7±0,1	0,6±0,1
Mv- <i>p</i> -coum	1,5±0,2	1,1±0,2
TA	27,1±3,3	21,2±3,1
M-3-glc	1,4±0,1	1,2±0,1
Q-3-glc	0,8±0,1	0,8±0,09
Q-3-glc/rut	1,3±0,1	1,0±0,06
K-3-glc	*	*
TFl	3,5±0,3	3,0±0,2
Couta	2,3±0,9	2,1±0,9
Epigallocatequina <sup>a</sup>	9,1±0,9	8,1±0,9
Catequina <sup>b</sup>	27,5±3,1	23,5±2,7
Epicatequina <sup>c</sup>	4,2±0,2	3,4±0,3
TPro	40,8±4,4	35,0±6,2
<i>trans</i> -Astringina	-	*
<i>trans</i> -Piceatanol	-	0,1±0,01
<i>trans</i> -Piceido	0,3±0,04	0,2±0,02
<i>trans</i> -resveratrol	*	8,1±0,5
Viniferinas totales	*	0,1±0,03
Polifenoles totales (HPLC):	71,7±8,9	67,7±10,1
Polifenoles totales (Folin-ciocalteu) <sup>d</sup> :	151±17	139±18

Los valores se expresan como mg±SD por cápsula (350 mg de extracto). Se muestran los promedios de los valores (n = 3). \*Identificado, pero no cuantificado. – No detectado. Grado de polimerización medio (mPD) de procianidinas: <sup>a</sup>1,2; <sup>b</sup>2,4; <sup>c</sup>1,4. El mPD fue el mismo en ambos extractos. (Dp-3-glc) delfinidina 3-glucósido; (Cy-3-glc) cianidina 3-glucósido; (Pt-3-glc) petunidina 3-glucósido; (Pn-3-glc) peonidina 3-glucósido; (Mv-3-glc) malvidina 3-glucósido; (Dp-*p*-coum) delfinidina 3-*p*-coumaroilglucósido; Cianidina (Cy-*p*-coum) 3-*p*-coumaroilglucósido; (Pn-*p*-coum) peonidina 3-*p*-coumaroilglucósido; (Mv-*p*-coum) malvidina 3-*p*-coumaroilglucósido; Antocianinas totales (TA); (M-3-glc) miricetina 3-glucósido; (Q-3-glc) quercetina 3-glucurónido; (Q-3-glc/rut) quercetina 3-glucósido y quercetina 3-rutinósido; (K-3-glc) kaempferol-3-glucósido; (TFl) flavonoles total; Ácido de *p*-coumaroiltartárico (Couta); Tpro (procianidinas totales). <sup>d</sup> Siguiendo el procedimiento de Singleton y Rossi (Singleton & Rossi, 1965).

## Material y Métodos

**Tabla 3.2.** Análisis nutricional de los extractos de uva utilizados en el presente ensayo (GE y GE-RES).

	<b>GE (1 cápsula)<sup>a</sup></b>	<b>GE-RES (1 cápsula)</b>
Proteínas	2,4±0,5 mg	2,6±0,5 mg
Grasas	0,9±0,1 mg	0,7±0,1 mg
Carbohidratos <sup>b</sup>	130±5 mg	128±4 mg
Fibra dietética	15,5±3,4 mg	13,6±2,3 mg
Humedad	10,5±0,5 mg	11,9±0,6 mg
Cenizas	21,5±1,3 mg	20,7±2,1 mg

<sup>a</sup>Una cápsula = 350 mg de extracto o placebo. <sup>b</sup>El alto contenido de carbohidratos se deriva de la maltodextrina de maíz utilizada como portador en el proceso de secado de los extractos. Estos carbohidratos no proceden de la uva (comunicación de la empresa Actafarma S.L.). El aporte calórico derivado de la ingesta de las cápsulas en el contexto de la dieta diaria, es irrelevante.

En el caso de GE-RES, el extracto de uva también contiene 8,1±0,5 mg de RES por cápsula, así como otros derivados de este polifenol (piceido y viniferinas) en pequeñas cantidades. El uso de estos dos tipos de extractos en paralelo permitiría evaluar el posible papel específico del RES en comparación con el resto de los componentes de la uva.

Los estuches codificados conteniendo los blísteres con las cápsulas se entregaron a la farmacia del Hospital Universitario Morales Meseguer de Murcia, para la supervisión de los análisis y de la diversa documentación entregada.

### **3.1.5. Selección de marcadores relacionados con la función cardiovascular y argumento para su elección**

Se determinaron marcadores de inflamación y trombóticos relacionados con el riesgo cardiovascular. Se seleccionaron varios marcadores comunes para ambos tipos de pacientes (PP y PS), y otros que eran más específicos al describir mejor el riesgo asociado en PP o PS. Somos conscientes de que hay otros marcadores que también habrían sido interesantes de evaluar, sin embargo, se ha tenido que hacer un promedio

entre el número de marcadores a determinar, las muestras resultantes, el volumen de sangre necesario y el coste total asociado.

En los marcadores elegidos se describe brevemente el criterio seguido en su elección y bibliografía asociada.

### **3.1.5.1. Prevención Primaria (PP)**

Marcadores de inflamación:

- Leucocitos y fórmula leucocitaria. A pesar de ser un marcador muy inespecífico se consideró por su facilidad en la determinación. Refleja un estado inflamatorio exacerbado y consecuente aumento de síntesis de biomarcadores. Sus niveles elevados se han relacionado con riesgo de infarto en sujetos sanos (Wheeler, *et al.*, 2004).
- Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP). Refleja el estado inflamatorio subyacente en pacientes sanos y con enfermedad establecida. Además, tiene acciones propias claramente pro-ateroscleróticas:
  - Potencia la síntesis de moléculas de adhesión y citoquinas.
  - Media la opsonización de LDL previa a la fagocitosis.
  - Activa el Complemento en la placa ateromatosa.
  - Atenúa la síntesis de óxido nítrico y prostaciclina.

Un descenso en la CRP es una conclusión con repercusión. Los datos indican que en PP, valores < 1 mg/L corresponden a un bajo riesgo, de 1 a 3 revelan un riesgo moderado y > 3 suponen un riesgo alto (Ridker, 2003).

- Moléculas de adhesión solubles: Las inmunoglobulinas que mejor expresan el riesgo en PP son las ICAM-1. Para muchos expresan un “estado de inflamación

## Material y Métodos

vascular” (Ridker, *et al.*, 2000). Son moléculas endoteliales de adhesión intercelular que se expresan en endotelios “relativamente sanos,” activados por las citoquinas y por tanto en fases iniciales de la aterosclerosis. Lo que realmente se mide son determinadas porciones lisadas que están solubles en el torrente sanguíneo.

- Adiponectina. Pertenece al grupo de las adipocitoquinas (citoquinas relacionadas con el tejido adiposo). Además de presentar diferentes acciones sobre el metabolismo graso y de carbohidratos, es una citoquina protectora con importantes efectos anti-inflamatorios y cardioprotectores entre los que incluyen bloqueo de la fagocitosis de LDL por monocitos, bloqueo en la adhesión de monocitos al endotelio, inhibición de síntesis de TNF- $\alpha$  y de moléculas de adhesión VCAM e ICAM. (Goldstein & Scalia, 2004, Kriketos, *et al.*, 2004).

- Citoquinas: Péptidos señalizadores, mediadores químicos que se producen como respuesta a una agresión al tejido y provocan una respuesta inflamatoria. Suelen ser moléculas multifuncionales que ejercen diferentes acciones sobre las diferentes células sobre las que actúan. Muchas tienen varias funciones y en ocasiones se solapan.

- TNF- $\alpha$ , Citoquina proinflamatoria sintetizada por leucocitos, células endoteliales y músculo cardiaco. Está implicada en la génesis de la enfermedad coronaria, de ahí su interés en PP. En sujetos sanos se han relacionado sus niveles en sangre periférica con el desarrollo de eventos coronarios durante el seguimiento. (Cesari, *et al.*, 2003).

- Interleuquina (IL) 18: Es una citoquina proinflamatoria implicada en la inducción y progresión de la placa aterosclerótica, es por esto un marcador fiable en PP (Blankenberg, *et al.*, 2003).

- IL-10: Es una citoquina anti-inflamatoria. Contrarresta múltiples vías implicadas en la génesis de la placa aterosclerótica. Sus niveles elevados, por tanto indican protección y estabilidad de placa (de Vries, 1995).
- Homocisteína: Cada vez cobra más fuerza la evidencia relacionada con un incremento en los niveles de homocisteína (Hcys) y la inducción de aterosclerosis, por potenciar el estado inflamatorio y trombótico y por facilitar la oxidación de LDL (Poddar, *et al.*, 2001).

Marcadores de Trombosis:

- Número de plaquetas y volumen plaquetario. Se ha relacionado con un estado protrombótico e implica un estado de reactividad plaquetaria (Bath & Butterworth, 1996).
- PAI-1: Es una proteína que induce un descenso de la fibrinólisis, por tanto favoreciendo la trombosis. Es conocido que en sujetos con factores de riesgo un descenso de la fibrinólisis con aumento del PAI es predictor de la aparición de enfermedad coronaria (Meade, *et al.*, 1993).
- Fibrinógeno: Desde hace varias décadas es un marcador relacionado con el riesgo cardiovascular. Está implicado tanto en la potenciación de los procesos trombóticos, contribuyendo directamente a la aterogénesis e induciendo la desorganización y migración de células endoteliales, alterando por tanto la permeabilidad vascular estimulando la proliferación de células musculares lisas (Montalescot, *et al.*, 1998). Respaldo en múltiples estudios de PP y modificable por estilo de vida (Maresca, *et al.*, 1999).

## Material y Métodos

Otros marcadores de riesgo cardiovascular:

- Apolipoproteína B (ApoB). En estudios epidemiológicos la apoB ha permitido predecir los episodios cardiovasculares futuros y en algunos estudios tuvo mayor capacidad predictiva que el cLDL (Genest, *et al.*, 1986, Nambi, *et al.*, 2009).
- LDL oxidadas. Las LDL circulantes migran a través de la barrera endotelial penetrando en la íntima. Su oxidación mediada por el oxígeno reactivo las transforma en LDL oxidadas. Estos productos, extremadamente tóxicos actúan con daño directo sobre la pared arterial, induciendo la síntesis de citoquinas y factores quimiotácticos por las células colindantes y siendo substrato para la formación de la fagocitación por macrófagos para formar las células espumosas (Hansson, 2005).

### **3.1.5.2. Prevención Secundaria (PS)**

Marcadores de inflamación:

- Leucocitos y fórmula leucocitaria. Sus niveles elevados en pacientes que ya han sufrido un evento cardiovascular se ha relacionado con riesgo de eventos futuros (Cannon, *et al.*, 2001).
- hsCRP. Sus niveles después de un evento cardiovascular reflejan el estado inflamatorio y predice la aparición de nuevos eventos tanto en la fase aguda como en pacientes ya estables (Ridker, 2003).
- Moléculas de adhesión solubles: En pacientes con enfermedad cardiovascular conocida, las VCAM-1 reflejan el daño endotelial y se muestran buenas predictoras de eventos en este grupo de pacientes. (Blankenberg, *et al.*, 2001). Estas moléculas se expresan más en endotelios muy enfermos por eso son predictoras de eventos en

pacientes con daño previo. En la sangre se detecta una porción solubilizada que ha sido lisada del receptor anclado al endotelio.

- Adiponectina. El aumento de sus niveles séricos disminuye el riesgo de nuevos eventos en pacientes de PS (Sakamoto, *et al.*, 2006).

- Citoquinas:

- IL-6. Es la citoquina proinflamatoria clave en la respuesta inflamatoria, además está implicada en la relación trombosis/inflamación presente en el síndrome coronario agudo (SCA) dada su capacidad de activar la coagulación. Sintetizada por células sanguíneas y musculares (Woods, *et al.*, 2000). Es predictora de eventos en pacientes con diferentes grados de enfermedad coronaria (Lindmark, *et al.*, 2001, Volpato, *et al.*, 2001).

- TNF- $\alpha$ . Sus niveles tras el infarto son predictores de eventos en el seguimiento de pacientes con EAC (Ridker, *et al.*, 2000).

- IL-10. El balance inflamación (IL-6) y anti-inflamación (IL-10) es un indicador conocido de progresión de enfermedad cardiovascular (Anguera, *et al.*, 2002, Yamashita, *et al.*, 2003).

Marcadores de trombosis:

- Número de plaquetas y volumen plaquetario. Se ha relacionado con un estado protrombótico e implica un estado de reactividad plaquetaria (Bath & Butterworth, 1996).

- PAI-1 (inhibidor del activador tisular del plasminógeno): Sus niveles tras un evento coronario son predictores de evolución desfavorable (Juhan-Vague, *et al.*, 1996).



## **Material y Métodos**

- Fibrinógeno. Sus niveles se han relacionado con el desarrollo de eventos tras un SCA (Acevedo, *et al.*, 2002).
- Ligando CD40 soluble (sCD40L). Está presente en las plaquetas y otras células como las endoteliales. Está implicado tanto en potenciar los procesos trombóticos tras la activación de las plaquetas como en la inflamación. Tras su activación genera una porción soluble que es detectable en sangre periférica y predictora de eventos (Heeschen, *et al.*, 2003).

### **3.1.6. Procesado de muestras y determinación de variables**

Se procedió a la extracción de sangre siempre en ayunas, a primera hora de la mañana, en la vena antecubital, con tubos *Vacutainer*. A todos pacientes se extrajeron 3 tubos destinados a las determinaciones de marcadores inflamatorios, trombóticos y otros marcadores ateroscleróticos (2 tubos para recuperación de suero y 1 de citrato sódico para obtención de plasma), y 1 más para la medición de parámetros serobioquímicos y hematológicos. Además, se extrajeron 2 tubos extra a los pacientes diabéticos de PS para aislamiento de células mononucleares de la sangre periférica (PBMC) (véase la sección “*Aislamiento de células mononucleares de la sangre periférica*”). La determinación de variables serobioquímicas y hematológicas se realizó tras la extracción, mientras que los tubos para determinación de marcadores se centrifugaron inmediatamente a 3500 rpm, durante 15 minutos a temperatura ambiente y se alicuotaron antes de congelarlos a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

**3.1.6.1. Variables serobioquímicas y hematológicas**

La determinación se llevó a cabo en el servicio de análisis clínicos del Hospital Morales Meseguer de Murcia (**Figura 3.10**).

				Página 1 de 2
Req. date	: 17/12/2009 10:15	Name	: 40p_1	
Coll. date	: 17/12/2009 10:15	Pat No	: 0000000000027855	
Request No	: 9121757246	Ben No	:	
Doctor	: CAR, GONZALVEZ ORTEGA, MANUEL	Hos No	:	
Location	: CONSULTA DE CARDIOLOGÍA	D.O.B.	: 04/08/1966	
		Sex	: Male	
BIOQUÍMICA		Valor	Unidades	Intervalo de valores normales
Srm-GLUCOSA	H	185,4	mg/dL	73,8 - 100,1
Srm-CREATININA		0,90	mg/dL	0,68 - 1,26
Srm-UREA		31	mg/dL	13 - 43
Srm-URATO		6,0	mg/dL	3,5 - 7,3
Srm-BILIRRUBINA		0,71	mg/dL	0,29 - 1,24
Srm-ION SODIO		139	mmol/L	136 - 145
Srm-ION POTASIO		4,8	mmol/L	3,5 - 5,1
Colesterol	H	268	mg/dL	131 - 201
Srm-COLESTEROL HDL		64	mg/dL	35 - 67
Triglicerido		75	mg/dL	35 - 201
Srm-COLESTEROL LDL(c)	H	189	mg/dL	83 - 130
Srm-ALBÚMINA		48	g/L	34 - 48
Srm-PROTEINA		73	g/L	64 - 83
Srm-PROTEÍNA C REACTIVA		5,0	mg/L	0,0 - 10,0
El resultado puede ser igual o inferior al indicado.				
INMUNOGLOBULINA A		1,84	g/L	0,40 - 3,50
INMUNOGLOBULINA G		8,8	g/L	6,5 - 16,0
INMUNOGLOBULINA M	L	0,36	g/L	0,50 - 3,00
Srm-ALANINA AMINOTRANSFERASA		20	u.int/L	10 - 40
Srm-ASPARTATO AMINOTRANSFERASA		16	u.int/L	8 - 30
Srm-CREATINA QUINASA		108	u.int/L	38 - 174
Srm-FOSFATASA ALCALINA		134	u.int/L	90 - 360
Srm-GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA		17	u.int/L	2 - 30
% HEMOGLOBINA GLICADA	H	9,4	%	6,0 - 7,0
<b>PROTEINOGRAMA</b>				
% ALBUMINA	H	64,8	%	54,0 - 64,2
% ALFA1 GLOBULINAS		3,9	%	3,8 - 7,4
% ALFA2 GLOBULINAS		8,5	%	7,0 - 10,9
% BETA1 GLOBULINAS		6,1	%	5,6 - 8,0
% BETA2 GLOBULINAS		4,2	%	3,3 - 6,4
% GAMMAGLOBULINAS		12,5	%	10,6 - 18,8
Srm-TIROTROPINA		2,74	mUI/L	0,35 - 5,50
TIROXINA LIBRE (T4L)		1,36	ng/dL	0,90 - 1,77
<b>HEMATIMETRÍA</b>				
<b>HEMOGRAMA</b>				
LEUCOCITOS TOTALES		7,7	10 <sup>9</sup> /L	4,2 - 10,6

Página 2 de 2

	Valor	Unidades	Intervalo de valores normales
% NEUTROFILOS	55	%	40 - 75
% LINFOCITOS	29	%	17 - 48
% MONOCITOS	10	%	3 - 13
% EOSINOFILOS	6	%	0 - 7
% BASOFILOS	0	%	0 - 2
NEUTROFILOS TOTALES	4,2	10 <sup>9</sup> /L	1,85 - 7,9
LINFOCITOS TOTALES	2,2	10 <sup>9</sup> /L	0,95 - 4,8
MONOCITOS TOTALES	0,8	10 <sup>9</sup> /L	0,1 - 1,4
EOSINOFILOS TOTALES	0,4	10 <sup>9</sup> /L	0,0 - 0,7
BASOFILOS TOTALES	0,0	10 <sup>9</sup> /L	0,0 - 0,2
ERITROCITOS TOTALES	5,01	10 <sup>12</sup> /L	4,50 - 6,00
HEMOGLOBINA	144	g/L	130 - 175
HEMATOCRITO	0,419	L/L	0,410 - 0,530
VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO	83,6	fL	81,0 - 98,0
HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA	28,8	pg	26,0 - 33,0
CONCENTRACIÓN HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA	345	g/L	310 - 370
ANCHO DE DISTRIBUCIÓN ERITROCITARIA	13,7	%	11,5 - 14,5
PLAQUETAS TOTALES	253	10 <sup>9</sup> /L	140 - 400
VOLUMEN PLAQUETARIO	8,9	fL	6,0 - 11,1
VELOCIDAD ERITROSEDIMENTACIÓN	3	mm/1 <sup>h</sup>	1 - 15
<b>COAGULACIÓN</b>			
TIEMPO DE TROMBOPLASTINA ACTIVADA	10,8	seg	
ACTIVIDAD PROTROMBÍNICA	100	%	70 - 100
TIEMPO DE PROTROMBINA RATIO INTERNACIONAL NORMALIZADA	0,93	1	0,75 - 1,40
TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA ACTIVADA	29,3	sec	
TIEMPO DE PROTROMBINA	1,04	R	0,80 - 1,20
FIBRINOGENO	2,8	g/L	2,0 - 4,0
DIMERO D	0,070	mg/L	0,000 - 0,278

**Figura 3.10.** Variables bioquímicas y hematológicas determinadas en los análisis clínicos rutinarios llevados a cabo en el Hospital Morales Meseguer. Los intervalos normales para cada parámetro se encuentran en la columna de la derecha. Srm, suero; H, valores por encima de los valores normales; L, valores por debajo de los valores normales. El método de determinación rutinaria de los valores de proteína C reactiva tiene un límite demasiado alto de sensibilidad (5 mg/L), el cual no permite detectar cambios dentro de los umbrales recomendados recientemente para estratificar los pacientes en riesgo alto (> 3mg/L), riesgo intermedio (1-3 mg/L) y riesgo bajo (< 1 mg/L) (Sabatine, *et al.*, 2007). Por este motivo los valores de CRP usados en el análisis estadístico se midieron a través de kits de ELISA de alta sensibilidad.

Las variables bioquímicas se determinaron en suero utilizando un auto-analizador bioquímico automatizado (Advia Systems, Siemens Healthcare Diagnostic Inc., Deerfield, EEUU). Las pruebas incluyeron la medición de glucosa, albúmina, creatinina, bilirrubina, colesterol total, colesterol HDL (cHDL), colesterol LDL (cLDL), triglicéridos, alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST),  $\gamma$ -glutamil transferasa (GGT), creatina fosfoquinasa (CPK) y ácido úrico. Para calcular la carga aterogénica de lípidos en sangre, expresada como

todo el colesterol no-HDL, se restaron los valores de cHDL a los de colesterol total. Los parámetros de coagulación se determinaron en suero utilizando un analizador de ACL TOP 700 (Instrumentation Laboratory, Lexington, EEUU). La tiroxina (T4) y la hormona estimulante de la tiroides (TSH) se midieron en un sistema de Advia Centaur XP (Siemens Healthcare Diagnostic).

Las variables hematológicas se determinaron con un analizador hematológico automatizado (LH 780 Beckman Coulter, Fullerton, EEUU). Se analizó lo siguiente: glóbulos rojos, velocidad de sedimentación globular, concentración de hemoglobina, hemoglobina glicada (HbA1c), hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, plaquetas, volumen de plaquetas medio, leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

### **3.1.6.2. Marcadores relacionados con la función cardiovascular**

#### **3.1.6.2.1. Marcadores inflamatorios y trombóticos**

Los niveles de varios marcadores de inflamación y trombóticos relacionados con el riesgo cardiovascular se midieron a través de análisis inmunoenzimático (ELISA). Se usaron kits comercialmente disponibles, siguiendo los protocolos descritos por los fabricantes. Los niveles de IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$  fueron medidos usando kits de la casa *Biolegend* (San Diego, CA, EEUU) (límites de detección de 4, 2 y 2 pg/mL, respectivamente). Los niveles de sICAM-1 y VCAM-1 fueron medidos con kits comerciales de *BenderMedSystems* (Viena, Austria) y *Gen-Probe* (San Diego, CA, EEUU), con límites de detección de 6,25 y 0,6 ng/mL, respectivamente. En el caso de la hsCRP y adiponectina, los kits se adquirieron de *AssayPro* (Winfield, MO, EEUU)

## **Material y Métodos**

(límites de detección de 0,25 y 0,7 ng/mL, respectivamente). Se midieron los niveles del antígeno de PAI-1 en plasma citrado usando kits de *PeptoTech* (Rocky Hill, NJ, EEUU) (límite de detección de 23 pg/mL). Los niveles de sCD40L e IL-18 se determinaron usando kits de *BenderMedSystems* (Viena, Austria) (límites de detección de 160 y 78 pg/mL, respectivamente).

### **3.1.6.2.2. Otros marcadores**

#### **Apolipoproteína B (ApoB)**

Los valores de apoB se determinaron por inmunoturbidometría (Siemens Healthcare Diagnostics, Barcelona).

#### **LDL oxidada (LDLox)**

Los niveles de LDLox se midieron por ELISA, utilizando el kit de *Mercodia* (Uppsala, Suecia) y siguiendo las especificaciones del fabricante. Todas las muestras fueron analizadas al menos por duplicado. Además, se repitieron los análisis de marcadores con cambios estadísticamente significativos para confirmar los resultados.

### **3.1.7. Análisis por cromatografía**

#### **3.1.7.1. Detección de resveratrol y derivados metabólicos**

El plasma (300 L) y partículas de LDL (500 L) se obtuvieron y procesaron según Azorín-Ortuño y colaboradores (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011) para detectar compuestos fenólicos (incluyendo el RES) y sus derivados metabólicos. El análisis se realizó utilizando el sistema de trampa de iones LC-DAD-ESI-MS/MS descrito anteriormente y por UHPLC-triple cuadrupolo (QqQ). El sistema de trampa de iones LC-DAD-ESI fue

utilizado para detectar derivados de flavonoles, antocianinas, metabolitos de flavan-3-ol, así como sus ácidos fenólicos derivados de microbiota intestinal. Las condiciones fueron las anteriormente descritas por Tomás-Barberán y colaboradores (2007). El sistema de UHPLC-MS de triple cuadrupolo (QqQ) consistió en un HPLC de la serie *Infinity 1290* (Agilent) equipado con un espectrómetro de masas triple cuadrupolo de la serie 6460 (Agilent) (**Figura 3.11**). Los metabolitos derivados de la uva no se evaluaron en el QqQ debido a la falta de patrones adecuados para optimizar la detección de las transiciones. Las condiciones para la detección de RES y sus metabolitos derivados, así como su identificación y cuantificación fueron optimizadas según Azorín-Ortuño et al (2011) utilizando estándares auténticos. Se buscaron 12 y 7 metabolitos del RES y DHRES, respectivamente. La separación cromatográfica se realizó a temperatura ambiente en una columna *C<sub>18</sub> Poroshell 120* (10 cm x 0,3 mm, y 2,7 µm, Agilent). La fuente de ionización es del tipo *Jet Stream* a una temperatura de 350 °C. Los parámetros de la fuente de ionización fueron los siguientes: voltaje del capilar: 3500 V, potencial de carga: 500 V, presión del nebulizador: 40 psi, gas auxiliar a 275 °C y flujo de 9000 cm<sup>3</sup>/min. Los datos de MS se obtuvieron en el modo monitorización de reacciones múltiples (MRM) y se monitorizaron las transiciones de los iones padres e hijos para cada metabolito: RES triglucurónido 755/227, RES diglucurónido 579/227, RES glucurónido 403/227, RES sulfoglucurónido 483/227, RES trisulfato 467/227, RES disulfato 387/227, RES sulfato 307/227, RES 227/185, DH-RES triglucurónido 757/229, DH-RES diglucurónido 581/229, DH-RES glucurónido 405/229, DH-RES sulfoglucurónido 485/229, DH-RES trisulfato 469/229, DH-RES disulfato 389/229, DH-RES sulfato 309/229 y DH-RES 229/187.



**Figura 3.12.** Equipo de UHPLC 1290 Infinity acoplado al 6460 triple cuadrupolo (QqQ) (Agilent).

### **3.1.7.2. Determinación de homocisteína total**

Se determinó la homocisteína (Hcys) en plasma. Se añadió el estándar interno (9  $\mu\text{M}$ )  $\text{d}_8$ -Homocystin (ClinMass<sup>®</sup>, Múnich, Alemania) al plasma (20  $\mu\text{l}$ ) tratado con EDTA para evaluar la ionización en el sistema UHPLC-MS-QqQ. Las muestras de plasma se incubaron con DL-1,4-ditiotreitol (25 mg/mL) a 37 °C durante 60 minutos y se procesaron según el protocolo descrito por Hellmuth y colaboradores (Hellmuth, *et al.*, 2011). El sobrenadante resultante se filtró a través de un filtro Millex de 0,45  $\mu\text{m}$  y se analizó (10  $\mu\text{L}$ ) en el sistema UHPLC-MS-QqQ. Las separaciones cromatográficas se llevaron a cabo, a temperatura ambiente, en una columna analítica *Zorbax SIL* (Agilent) de 4,6 x 250 mm (5  $\mu\text{m}$ ), usando como fases móviles agua:ácido fórmico (99,9:0,1, v:v) (A) y ACN:ácido fórmico (99,9:0,1, v:v) (B) y una velocidad de flujo de 0,5 mL/min. El gradiente empezó con 80% B en A para alcanzar el 10% a los 15 minutos y volver a las condiciones iniciales (80% B) a los 15,1 minutos, durante 5 minutos. Los parámetros de la fuente fueron los siguientes: voltaje del capilar: 3.500 V, potencial de carga: 500 V, presión del nebulizador: 40 psi, gas auxiliar calentado a 275 °C y flujo de 9000  $\text{cm}^3/\text{min}$ . Los datos de MS se obtuvieron en el modo de monitorización de reacción múltiple a través de la monitorización de transiciones específicas de iones padre y

productos para cada metabolito en el modo de ionización positiva (Hcys 136→90 y 136→56; d<sub>8</sub>-homocistina 277→140, 277→122, 277→94; d<sub>4</sub>-Hcys (tras la reducción) 140→94, 140→77 y 140→59. La cuantificación de Hcys total se llevó a cabo usando un estándar auténtico y una curva de calibrado desde 0,01 hasta 10 μM preparada en plasma.

### **3.1.8. Efecto de los productos objeto del estudio sobre la regulación de la expresión génica en células mononucleares de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

#### **3.1.8.1. Pacientes y diseño experimental**

Este estudio se llevó a cabo con un subconjunto (n=35) de los participantes en el ensayo clínico realizado con pacientes en PS de riesgo cardiovascular (n=75) (ver apartado 3.1.3. para más detalles relativos al diseño, reclutamiento y seguimiento). Este subconjunto de pacientes estuvo formado por un 100% de varones hipertensos, con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria (EAC). Los 35 pacientes incluido en el estudio fueron asignados aleatoriamente en los tres brazos del ensayo clínico como sigue: placebo (n=9), GE (n=13) y GE-RES (n=13).

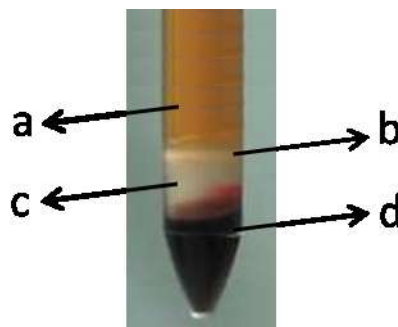
#### **3.1.8.2. Aislamiento de PBMC**

El aislamiento de PBMC, de los 35 pacientes incluidos en este estudio, se realizó a partir de sangre extraída de la vena con tubos tipo *Vacutainer*<sup>®</sup> que contenían heparina de litio como anticoagulante (BD, Plymouth, Reino Unido). La sangre se procesó en menos de 2 horas desde la extracción. El procedimiento utilizado fue el de centrifugación en gradiente de densidad y para ello se utilizó Histopaque<sup>®</sup>-1077 (Sigma-



### Material y Métodos

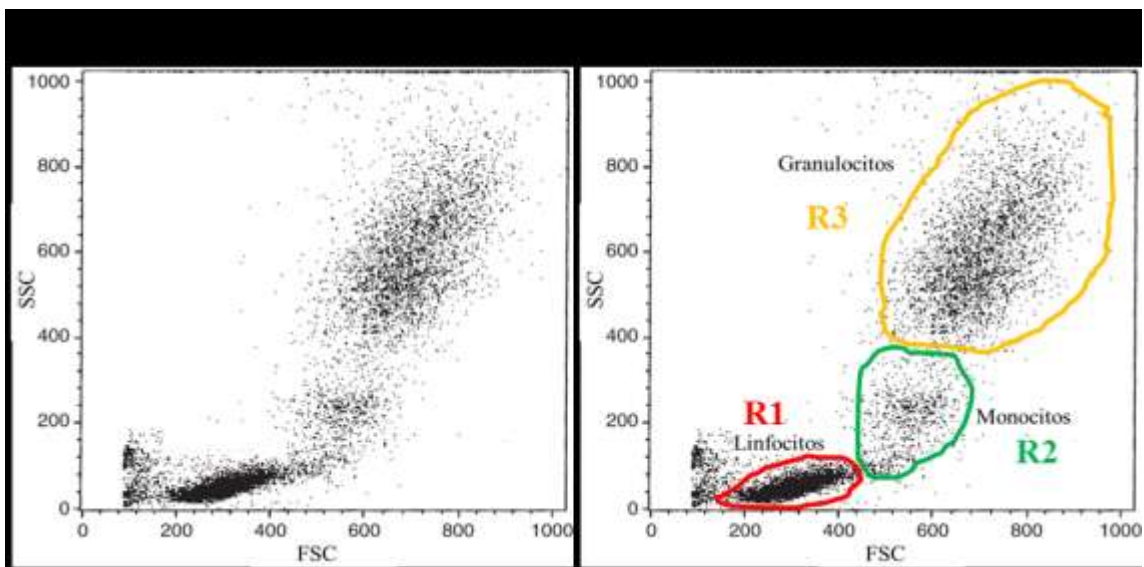
Aldrich, Madrid), una solución de polisacarosa y diatrizoato sódico ajustada a una densidad de 1,077 g/mL. El proceso se realizó en tubos de centrifuga cónicos de 15 mL. Por cada voluntario se utilizaron 6 mL de sangre diluida 1:1 con medio de cultivo RPMI 1640 que se extendieron cuidadosamente sobre 3 mL de Histopaque<sup>®</sup>-1077. Los tubos se centrifugaron a 580g en una centrífuga sin freno, durante 40 minutos y a temperatura ambiente. Durante el centrifugado, los eritrocitos y granulocitos se agregan por la polisacarosa y sedimentan rápidamente, mientras que los linfocitos y los monocitos forman una banda en la zona entre plasma e Histopaque<sup>®</sup>-1077 (**Figura 3.12**). A continuación, se transfirió cuidadosamente la banda opaca que contenía las células mononucleares a otro tubo de centrifuga limpio y se realizaron 3 lavados con 10 mL de medio de cultivo RPMI, centrifugando cada una de las veces a 234g durante 10 minutos. Por último, las células se resuspendieron en 2 mL de RPMI y se recogieron alícuotas para medir: i) concentración y viabilidad usando el colorante azul tripán y ii) porcentaje de las diferentes poblaciones celulares por citometría de flujo. El resto de células mononucleares se lisaron con el buffer de lisis *RNeasy Plus* (Qiagen, Madrid). El lisado se congeló a -80 °C para la posterior extracción del ARN y proteína. Todo el proceso se realizó en condiciones de esterilidad para evitar la activación de los monocitos.



**Figura 3.12.** Aislamiento de PBMC con Histopaque<sup>®</sup>-1077. **a**, plasma; **b**, anillo de linfocitos y monocitos (PBMC); **c**, histopaque-1077<sup>®</sup>; **d**, sedimento de eritrocitos.

### 3.1.8.3. Análisis de poblaciones celulares por citometría de flujo

Las PBMC aisladas se analizaron a través del citómetro de flujo *FACSort* (Becton Dickinson (BD), San José, CA, EEUU) equipado con láser de argón de 15 mW a 488 nm y *software FACStation Cell Quest* (BD). Para estimar la proporción de linfocitos, monocitos y posible contaminación con granulocitos en la suspensión celular aislada, se utilizaron los parámetros tamaño (FSC, *Forward Scatter*) y granulosidad (SSC, *Side Scatter*) (**Figura 3.13A**), ambos relacionados con el grado de dispersión de la luz que ejercen las células individuales al pasar por el haz de luz láser. Un principio importante del análisis de datos de citometría de flujo es visualizar selectivamente las células de interés. Para la selección de las regiones de interés se trazan los límites en torno a los subconjuntos o subpoblaciones de eventos siguiendo un criterio dado. Las diferentes propiedades físicas de los granulocitos, los monocitos y los linfocitos permiten distinguirlos en subpoblaciones y por consiguiente se pueden determinar los porcentajes de cada subpoblación (**Figura 3.13B**).



**Figura 3.13.** A, Ejemplo de un diagrama de puntos de una suspensión de leucocitos analizada por citometría de flujo en función de los parámetros tamaño (FSC) y granulosidad (SSC). B, Usando el mismo diagrama ejemplo que en A, los linfocitos, monocitos y granulocitos han sido limitados como región 1 (R1), la región 2 (R2) y la región 3 (R3), respectivamente.

## **Material y Métodos**

Los porcentajes $\pm$ DE de linfocitos, monocitos y granulocitos recuperados con Histopaque®-1077, según análisis efectuadas por el fabricante, fueron de 89,8 $\pm$ 3,5, 8,3 $\pm$ 3,0 y 2,3 $\pm$ 1,8, respectivamente ([http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/General\\_Information/handh\\_insert\\_a6929.Par.0001.File.tmp/handh\\_insert\\_a6929.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/General_Information/handh_insert_a6929.Par.0001.File.tmp/handh_insert_a6929.pdf)).

### **3.1.8.4. ARN y proteína de PBMC**

#### **3.1.8.4.1. Extracción y purificación**

Para la extracción y purificación de ARN de las PBMC se utilizó el kit *AllPrep DNA/RNA/Protein Mini* (Qiagen, Madrid). Este kit optimiza la preparación de las muestras habilitando la purificación simultánea de ADN genómico, ARN y proteína total a partir de la misma muestra de células. Además, no se requieren solventes orgánicos como fenol y acetona.

El primer paso consistió en la lisis de las PBMC aisladas previamente. Se utilizó un tampón de lisis conteniendo guanidina isotiocianato (GITC) al cual se le añadió  $\beta$ -mercaptoetanol ( $\beta$ -ME) al 1%. El  $\beta$ -ME es un agente reductor que, en combinación con la fuerte, pero temporal, acción desnaturizante de la GITC, desnaturaliza irreversiblemente las ARNasas y proteasas provenientes de las células lisadas y posibilita el aislamiento de ARN, ADN y proteínas intactas. El siguiente paso fue la homogeneización del lisado con el kit *QIAshredder* (Qiagen), lo cual aumenta la recuperación y purificación de ácidos nucleicos llevada a cabo posteriormente. La obtención de un lisado homogéneo es posible gracias a la centrifugación de la muestra a través de un biopolímero que rompe componentes celulares de alto peso molecular.

A continuación se hace pasar el lisado a través de una membrana que permite la unión selectiva y eficiente del ADN genómico. La membrana que retiene el ADN genómico se aparta (caso se desee, se procesa hasta obtener ADN genómico purificado) y se le añade etanol al filtrado resultante. Para recuperar el ARN se hace pasar esta solución por una membrana de retención específica para el efecto. El ARN retenido se recupera con agua libre de ARNasas.

Para la recuperación de proteína, se añadió tampón de precipitación APP (composición no revelada por el fabricante) al filtrado conteniendo las proteínas arrastradas en el paso anterior, para después concentrar las proteínas precipitadas por centrifugación. Finalmente, se resuspendieron las proteínas totales en tampón ALO (composición no revelada por el fabricante).

#### **3.1.8.4.2. Cuantificación y evaluación de calidad de ARN**

Una vez concluido el proceso de extracción y purificación del ARN, su concentración y pureza se determinaron con un espectrofotómetro de alta sensibilidad (NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000 v3.3.0) y/o un lector de placas *Infinite M200 Tecan* (Grodig, Austria), capaces de cuantificar volúmenes de ARN de 1-2  $\mu$ L. A 260 y 280 nm la absorbancia medida nos informa acerca de la concentración de ARN y de proteína, respectivamente. La relación  $A_{260}/A_{280}$  nos indica la pureza del ARN de la muestra, estando los valores aceptables comprendidos entre 1,8 y 2,1. Además, la relación  $A_{260}/A_{230}$  es indicativa de la presencia de contaminaciones en la muestra.

La calidad del ARN se evaluó por electroforesis en gel de agarosa (1% en tampón Tris-acetato/EDTA (TAE) 1X). La electroforesis se llevó a cabo durante 45 minutos a 90 V y el revelado se realizó sumergiendo el gel durante 15 minutos en una solución de bromuro de etidio (Sigma). Las imágenes se captaron en la estación de imagen

## **Material y Métodos**

*Chemidoc XRS* (BioRad). En algunos casos, la calidad del ARN también se evaluó mediante el sistema electroforético capilar Bioanalizador 2100 (Agilent Technologies). El software incluido en este sistema calcula el número de integridad del ARN (RIN), el cual facilita la determinación objetiva de la calidad del ARN a utilizar en experimentos posteriores. Este valor que va desde el 1 al 10, se basa en la cuantificación de productos de degradación del ARN a lo largo de toda su migración electroforética. En los experimentos de microarrays solamente se usaron muestras con valores RIN por encima de 8.5.

### **3.1.8.4.3. Cuantificación de proteína total y medición de TNF- $\alpha$**

Las proteínas totales extraídas de las PBMC al inicio y después de 12 meses de suplementación, usando el kit *AllPrep DNA/RNA/Protein Mini* (Qiagen, Madrid), se cuantificaron mediante el kit de cuantificación de proteínas DC (Biorad, Barcelona, España) basado en el ensayo de Lowry. Los niveles de TNF- $\alpha$  se midieron con un kit de ELISA ultrasensible (Invitrogen, Barcelona, España) siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante y se presentan como pg/mg de proteína.

### **3.1.8.5. Microarrays**

#### **3.1.8.5.1. Desarrollo y procesamiento**

El análisis de cambios en los niveles de expresión génica en las PBMC de individuos hipertensos y diabéticos se realizó, en primer lugar, la técnica de *microarrays*, la cual posibilita la exploración simultánea de los niveles de expresión de cientos a miles de genes (incluso genoma completo) en células o tejidos en condiciones y tiempos determinados (Katagiri & Glazebrook, 2004). El desarrollo y procesamiento

de los *microarrays* se llevó a cabo en la Unidad de Genómica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid. Se realizaron en total 54 *microarrays* con las muestras de ARN de 6 individuos de cada grupo (placebo, GE y GE-RES), pertenecientes al ensayo clínico con pacientes en PS. Se eligieron muestras de pacientes varones, diabéticos e hipertensos, en 3 momentos diferentes: 1) antes de la primera toma de cápsulas, 2) tras 6 meses y 3) al final del ensayo (12 meses). Partiendo del ARN aislado de las PBMC se siguió el protocolo *GeneChip® Whole Transcript (WT) Sense Target Labeling* (Affymetrix, Santa Clara, CA, EEUU). Se obtuvo el ADN monocatenario amplificado utilizando el *kit Ambion® WT Expression* (Life Technologies) y un total de 5,5 µg de ADN fueron fragmentados, marcados con el *kit WT terminal Labeling* (Affymetrix) e hibridados en los chips *Human Gene 1.0 ST Array* (Affymetrix), durante 16 h a 45 °C y 60 rpm. Este *array* contiene 764.885 sondas que analizan aproximadamente 28.869 genes y 192 microARN (miR). Los *microarrays* ya hibridados se lavaron y tiñeron en la estación de lavado 400 de *GeneChip®* (Affymetrix), y se escanearon con el escáner 3000 de *GeneChip®* (Affymetrix).

#### **3.1.8.5.2. Herramientas bioinformáticas y análisis funcional**

Para eliminar la variabilidad debida al error experimental, los datos crudos se normalizaron mediante la aplicación del algoritmo matemático *Robust Multi-array Average* (RMA) implementado en el *software* (versión 1.1.2) de la Consola de Expresión de *GeneChips* (Affymetrix). Usando los datos normalizados, se analizó la expresión génica diferencial para cada grupo, entre los 3 momentos del ensayo previamente indicados, utilizando la herramienta de comparación de grupos (*Class Comparison*) y un método de Bayes empírico (*Limma*) (Wettenhall & Smyth, 2004), implementado con *Babelomics* (<http://babelomics.bioinfo.cipf.es/>), lo cual resulta

## **Material y Métodos**

apropiado para microarrays con un tamaño muestral reducido (Murie, *et al.*, 2009). Mediante este modelo, los genes expresados diferencialmente en cada grupo, después de 6 y 12 meses de la intervención, se definieron como aquellos con un valor de  $P$  ajustado  $< 0,05$  (*False Discovery Rate* (FDR): 5%) y con ratios  $\geq 1,2$  (sobreexpresión) y  $< -1,2$  (represión de la expresión).

### **3.1.8.5.2.1. Identificación de funciones biológicas y rutas metabólicas**

Los datos obtenidos (genes expresados diferencialmente) tanto los identificadores de cada gen (conjuntos de sondas de *Affymetrix*) como sus valores de cambio de expresión correspondientes se cargaron en el software de análisis de rutas metabólicas *Ingenuity Pathways Analysis* (IPA) (Ingenuity<sup>®</sup> Systems, CA, EEUU). Este software proporciona acceso a información detallada y actualizada disponible en la red (bases de datos múltiples) sobre genes, así como de los procesos celulares, fisiológicos y patológicos, y de las rutas de señales y metabólicas, en los que intervienen. En particular, el IPA puede también elaborar y representar redes con los genes seleccionados, indicando las interacciones entre ellos y con sus posibles dianas, lo que ayuda a proponer hipótesis de regulación génica en respuesta a un tratamiento. Además el software dispone de una herramienta de análisis de factores de transcripción (TFA). Esta herramienta proporciona un z-score que predice si un determinado regulador transcripcional podría estar “activado” ( $z > 0$ ) o “inhibido” ( $z < 0$ ) basándose en los cambios de expresión de los genes que se sabe están regulados por dicho factor transcripcional, y significa que el número observado de predicciones “activadas” o “inhibidas” es poco probable en relación a predicciones aleatorias. En la práctica, se consideran significativas las puntuaciones de  $z$  mayores que 2 y menores que -2.

### 3.1.8.6. RT-PCR a tiempo real

#### 3.1.8.6.1. Desarrollo y procesamiento

Para validar algunos de los cambios en la expresión génica en PBMC detectados con los microarrays, se seleccionaron para su análisis por PCR cuantitativa a tiempo real algunos genes que exhibían cambios significativos y que eran de interés en relación con el desarrollo y/o prevención de las ECV.

El proceso asociado entre la transcripción reversa y la reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (*Reverse Transcription - quantitative Polymerase Chain Reaction*, RT-qPCR) resulta ser muy sensible y fiable para la detección y cuantificación de ácidos nucleicos específicos. La reacción de RT-qPCR mide en cada ciclo la cantidad de producto que se genera, a diferencia de otras técnicas de PCR convencionales donde simplemente se sabe la cantidad de producto final acumulado. En la RT-qPCR se parte de una muestra de ARN puro total y el proceso consiste en dos etapas: 1) el ARN sufre la acción de la transcriptasa reversa siendo convertido en ADN complementario (ADNc); 2) reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real, donde se amplifica y mide el ADNc diana, ciclo tras ciclo. La medición del ADNc que se va generando es posible gracias a una mezcla de cebadores y sondas *Taqman* (oligonucleótidos de unión específica a un fragmento de la secuencia del ADNc diana). El extremo 5' de estas sondas está unido covalentemente a un fluoróforo donador o *Reporter* (FAM<sup>®</sup>), que al ser excitado emite fluorescencia y el extremo 3' está unido a un silenciador o *Quencher* (TAMRA<sup>®</sup>), que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Sin embargo, durante la amplificación del ADNc, la actividad 5'-nucleasa *Taq* polimerasa hidroliza el extremo libre 5' de la sonda y causa la liberación del fluoróforo donador. A partir de este momento, la fluorescencia emitida por el donador deja de ser



## Material y Métodos

absorbida por el silenciador y es captada por el lector del termociclador. La fluorescencia solamente es detectable cuando la sonda hibrida específicamente con la secuencia de ADN diana y ocurre la reacción de amplificación; así que cualquier amplificación no específica que se pueda producir no resulta en un incremento en la detección de fluorescencia, la cual es proporcional a las copias de ADN diana sintetizadas en cada ciclo. Además, las sondas empleadas están diseñadas para cubrir zonas de unión exón-exón y, de este modo, imposibilitan cualquier amplificación de ADN genómico contaminante.

En el caso de los genes analizados (**Tabla 3.3**), se usó el método de paso único, o sea, ambas etapas (transcripción reversa y PCR a tiempo real) se realizaron en el mismo tubo. Este método se llevó a cabo en el termociclador *7500 Real-Time PCR System* (Applied Biosystems) (**Figura 3.14**) y las condiciones establecidas para la reacción fueron las siguientes: 1) 30 min a 48 °C para la etapa de transcripción reversa; 2) 10 min a 95 °C para la etapa de activación de la *Taq* polimerasa; 3) 40 ciclos de amplificación constituidos por 15 s a 95 °C (etapa de desnaturalización) y 1 minuto a 60 °C (etapa de hibridación y de medición de la fluorescencia emitida). Los ensayos se realizaron en placas específicas de 96 pocillos (MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate, Applied Biosystems). Cada reacción (pocillo) se llevó a cabo en un volumen total de 25 µL compuesto por los siguientes reactivos (Applied Biosystems): 12,5 µL de *One-Step Master Mix*, 0,625 µL de transcriptasa reversa *Multiscribe*, 1,25 µL de 20x *gene expression mix* y 10,625 µL de ARN (x ng/µL).

En el caso de los *miR* estudiados (**Tabla 3.3**), la reacción de transcripción reversa se realizó con el kit *miScript Reverse Transcription* y, subsiguientemente, se usó el cDNA producido para la reacción PCR en tiempo real efectuada en un termociclador *7900HT Fast Real-Time PCR system* (Applied Biosystems). Para la reacción de PCR se

usó el ensayo *miScript Primer* (específico para *miR*) (cebador 5'-3') y el kit *miScript SYBR Green PCR*, que contiene el cebador universal *miScript* (cebador 3'-5') y la *Master Mix* adecuada, siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante (Qiagen). Se usaron 10 µL por reacción (placas de 384 pocillos) y las condiciones de ciclos fueron: 15 min a 95°C (etapa inicial), seguidos de 40 ciclos de: 15s a 94°C (desnaturalización), 30s a 58°C (hibridación) y 30s a 70°C (extensión). Para la normalización se usó el ARN pequeño nuclear *RNU6*.

**Tabla 3.3.** Genes y *miR* seleccionados para validación por RT-PCR.

<b>Gen (símbolo – nombre completo)</b>	<b>Referencia sonda (Applied Biosystems)</b>
<i>TNF-α</i> - factor de necrosis tumoral alfa	Hs00174128_m1
<i>IL-1β</i> - interleuquina 1 beta	Hs01555410_m1
<i>LRRFIP-1</i> - proteína 1 interactuante con el dominio de repetición rico en leucina (en FLII)	Hs01589950_m1
<i>CCL3</i> - ligando de quimioquina 3 (motivo C-C)	Hs00234142_m1
<i>NFKB-1</i> - subunidad p105 del factor nuclear kappa B	Hs00765730_m1
<i>NFKBIA</i> - inhibidor alfa del factor nuclear kappa B	Hs00153283_m1
<i>GAPDH</i> - gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	Hs99999905_m1
<b>miR (símbolo – nombre completo)</b>	<b>Referencia sonda (Affymetrix)</b>
<i>miR-21</i> – microARN 21	MS00009079
<i>miR-181b</i> – microARN 181b	MS00006699
<i>miR-155</i> – microARN 155	MS00031486
<i>miR-34a</i> – microARN 34a	MS00003318
<i>miR-663</i> – microARN 663	MS00005404
<i>miR-30c2</i> – microARN 30c2	MS00003829
<i>RNU6</i> – ARN nuclear pequeño U6	MS00033740



**Figura 3.14.** Termociclador 7500 *Real-Time PCR System* (Applied Biosystems).

## Material y Métodos

### **3.1.8.6.1.1. Ciclo umbral (Ct)**

Como se ha descrito, los resultados de la PCR en tiempo real se basan en la detección y cuantificación de los marcadores fluorescentes a lo largo de la reacción de la PCR. Durante las primeras fases de la PCR puede estimarse la concentración inicial de ADN o ARN diana, ya que el aumento de fluorescencia es proporcional a la concentración inicial de ácido nucleico diana presente en la muestra. Para cada muestra el programa informático calcula el número de ciclo en el que el lector empieza a detectar un incremento de fluorescencia significativo, con respecto a la señal de base. El ciclo en el que se empieza a detectar el aumento de fluorescencia se denomina ciclo umbral (Ct, del inglés *threshold cycle*) y es inversamente proporcional a la concentración inicial de ADN diana presente en la muestra, siendo la verdadera unidad de medida del producto de la PCR cuantitativa (Costa, 2004).

### **3.1.8.6.2. Cuantificación relativa de la expresión génica**

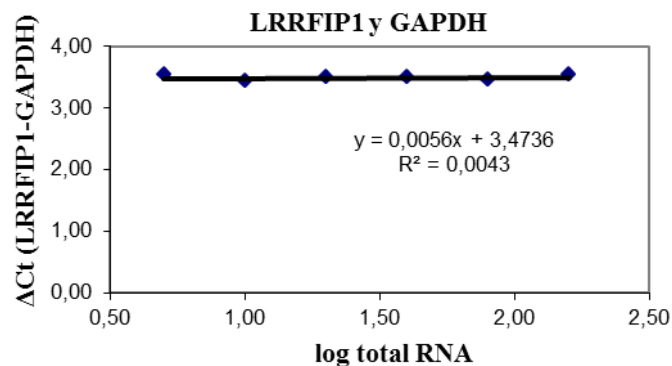
Los métodos de cuantificación relativa de la expresión génica permiten cuantificar diferencias en los niveles de expresión de genes diana entre diferentes muestras. El resultado final viene expresado como el aumento o disminución del número de veces de los niveles de expresión. Para obtener una cuantificación relativa precisa de una diana de ARNm, se recomienda evaluar también el nivel de expresión de un control endógeno. El uso de un control endógeno como referencia permite normalizar la cuantificación de las dianas con respecto a diferencias en la cantidad total de ácido nucleico añadida a cada reacción (Guía RTqPCR Applied Biosystems, 2008). El control endógeno usado en este estudio fue el gen de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), usado en otros estudios con PBMC (Jaworska, *et al.*, 2007, Spinsanti, *et al.*, 2008, Shin, *et al.*, 2012).

### 3.1.8.6.2.1. Análisis por el método comparativo de los Ct

Para la cuantificación relativa de la expresión génica, se pueden utilizar 2 metodologías de análisis distintas: el método de curva estándar relativo y el método comparativo de los Ct (también conocido como el método  $\Delta\Delta\text{Ct}$ ). Dependiendo de una variedad de factores, un método puede ser más apropiado que otro. La ventaja del método de la curva estándar relativa es que requiere menos validación porque las eficiencias de amplificación por PCR de la molécula diana y de la referencia no tienen que ser equivalentes. Sin embargo, requiere que cada placa de reacción incluya curvas estándar, lo que implica emplear más reactivos y usar más espacio en cada placa. Ambos métodos son similares, pero el método  $\Delta\Delta\text{CT}$  utiliza fórmulas aritméticas para lograr la cuantificación relativa, permitiendo eliminar el uso de curvas estándar. Este método es útil cuando se pretende analizar un gran número de genes diana y/o de muestras y es aconsejado para la validación de resultados de microarrays. La aplicación del método  $\Delta\Delta\text{CT}$  solo es válida si las eficiencias de amplificación por PCR son relativamente equivalentes o similares para la molécula diana y para la referencia. Para determinar si 2 reacciones de amplificación por PCR tienen la misma eficiencia hay que tener en cuenta como el  $\Delta\text{Ct}$  ( $\text{Ct}_{\text{diana}} - \text{Ct}_{\text{referencia}}$ ) varía con la dilución de la muestra. Esta determinación se logra mediante la ejecución de curvas estándar para cada amplicón utilizando concentraciones crecientes de ARN. La muestra a utilizar en la ejecución de estas curvas deberá ser la misma y donde se expresen tanto la(s) molécula(s) de referencia como la(s) molécula(s) diana. Los valores de Ct generados a partir de puntos de masa equivalentes de la curva estándar (diana frente a referencia) se utilizan en el cálculo de  $\Delta\text{Ct}$ . Los valores de  $\Delta\text{Ct}$  se representan frente al logaritmo de la cantidad de ARN y se determina la línea de regresión semilogarítmica (**Figura 3.15**). La pendiente

## Material y Métodos

de la recta resultante se utiliza como criterio general de validación, debiendo presentar un valor absoluto inferior a 0,1 para que el método  $\Delta\Delta\text{CT}$  se pueda emplear. Se normalizó la expresión de los genes diana con la del gen de referencia *GAPDH*, y la expresión de los *miR* con la del control ARN nuclear pequeño *RNU6*. Como todos los genes y *miR* estudiados (**Tabla 3.3**) pasaron la prueba previa de validación para el uso del método  $\Delta\Delta\text{Ct}$ , se usó este método para calcular la expresión génica relativa, la cual se presentó como  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ . Las comparaciones intra-grupo e inter-grupo efectuadas se realizaron con los valores de  $\Delta\text{Ct}$ . Estos valores tanto en el caso de los genes como de los *miR* seleccionados incumplían los supuestos necesarios para el empleo de pruebas estadísticas paramétricas, incluso después de que se les aplicaran transformaciones logarítmicas. De esta forma, se emplearon pruebas estadísticas no paramétricas en las comparaciones efectuadas.



**Figura 3.15.** Validación del uso del método  $\Delta\Delta\text{CT}$  para el gen diana LRRFIP1 y el correspondiente gen de referencia GAPDH. El gráfico representa el  $\Delta\text{CT}$  frente al logaritmo de la cantidad de ARN introducida. El valor absoluto de la pendiente es menor que 0,1 así que el método comparativo de los Ct es válido para determinar la cuantificación relativa de estos 2 genes.

### 3.1.9. Análisis estadístico

El análisis estadístico y la elaboración de los gráficos presentados se llevó cabo usando los paquetes de análisis estadísticos SPSS (versión 19.0) y SigmaPlot (versión 12.x), respectivamente. El nivel de significación aceptado fue  $P < 0,05$  con un intervalo

de confianza (IC) del 95 %. También se señalaron diferencias estadísticas límite ( $P=0,05$ ) y tendencias ( $0,1>P>0,05$ ).

Las características iniciales de los pacientes fueron comparadas para determinar posibles diferencias significativas entre los grupos. Las características basales cualitativas entre los grupos del ensayo se compararon por la prueba de Chi-cuadrado. Las características basales cuantitativas se analizaron por análisis de varianza (ANOVA), cuando los supuestos referidos a continuación se cumplían. En los modelos teóricos en los que se basa el ANOVA existen supuestos que deben ser cumplidos para que este tipo de análisis sea válido, es decir las observaciones deben ser independientes, la variable dependiente (VD) debe ser cuantitativa y seguir una distribución normal en todos los grupos a comparar, y las varianzas de las distintas poblaciones representadas en las muestras no deben diferir significativamente entre sí (homogeneidad de varianzas). La normalidad se evaluó a través de la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Levene. Cuando estos supuestos no se cumplían, se aplicaron transformaciones logarítmicas a las variables, transformación esta que, en general, resultó en el cumplimiento de dichos supuestos. En los casos, pertinentemente indicados, donde la violación de los supuestos se mantuvo, incluso con transformación logarítmica, se emplearon pruebas estadísticas no paramétricas (Kruskal-Wallis).

El modelo lineal generalizado de medidas repetidas proporciona un ANOVA cuando se toma la misma medida de la VD varias veces a cada sujeto o caso. Cuando se especifican factores (escala categórica) inter-sujetos, éstos dividen la población en grupos. Utilizando este procedimiento, se pueden contrastar hipótesis nulas sobre los efectos tanto de los factores inter-sujetos como de los factores intra-sujetos. Asimismo se puede investigar las interacciones entre los factores y también los efectos

## **Material y Métodos**

individuales de los factores. También se pueden incluir y controlar estadísticamente los efectos de otras variables continuas que no son de interés principal (covariables, CV), y de las interacciones de estas con los factores inter-sujetos. La inclusión de CV, convierte el modelo en un análisis de covarianza (ANCOVA) de medidas repetidas. Este último fue modelo utilizado para evaluar diferencias a lo largo del tiempo para cada grupo (intra-grupo) e entre los 3 grupos (inter-grupos) para varias VD medidas en 3 momentos a lo largo del ensayo (inicio, a los 6 meses y al final de la intervención). Las CV deben idealmente ser medidas usando una escala continua u ordinal y ser medidas antes de la manipulación experimental, ya que se asume que son independientes de la misma. La relación entre la VD y las CV debe ser lineal (esto se verificó a través diagramas de dispersión) y las CV no deben tener correlaciones muy elevadas entre sí (ausencia de multicolinealidad) ya que el ajuste aportado es redundante y reduce el poder del análisis. Además, para asegurar la validez de los resultados de los análisis de ANCOVA de medidas repetidas, debe haber homogeneidad de las pendientes de regresión (la relación entre la VD y las CV debe ser similar para todos los grupos experimentales, de manera a que las líneas de regresión resultantes sean paralelas). También se evaluó el supuesto de esfericidad (igualdad de varianzas de las diferencias entre todos los niveles de la VI) mediante la prueba de Mauchly. Cuando los supuestos necesarios para la prueba de ANCOVA no se cumplían, se aplicaron transformaciones logarítmicas a las variables. En los casos, oportunamente indicados, en los que el incumplimiento de los supuestos se mantuvo, incluso con transformación logarítmica, las comparaciones intra-grupo se realizaron utilizando la prueba de medidas repetidas de Friedman seguido por la prueba de Wilcoxon y las comparaciones entre grupos se evaluaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Mann-Whitney.

La fuerza de asociación entre dos variables de distribución normal se midió con el coeficiente de correlación de Pearson o, ante distribuciones no normales, con el coeficiente de correlación de Spearman. Para calcular la expresión diferencial y co-expresión diferencial, primero se calcularon 4 correlaciones diferentes para todos los pares de miR: 1 para la población completa y 3 más para cada uno de los grupos (placebo, GE y GE-RES) por separado. Para encontrar los pares de miR con diferente comportamiento en los diferentes grupos, se calculó la varianza de cada par como  $\frac{1}{2} ((\text{cor}_{\text{Placebo},i} - \text{cor}_i)^2 + (\text{cor}_{\text{GE},i} - \text{cor}_i)^2 + (\text{cor}_{\text{GE-RES},i} - \text{cor}_i)^2)$ , donde  $\text{cor}_{\text{Placebo},i}$  corresponde a la correlación de las muestras de placebo para un par de miR  $i$ ;  $\text{cor}_{\text{GE},i}$  corresponde a la correlación de las muestras del grupo GE para un par de miR  $i$ ,  $\text{cor}_{\text{GE-RES},i}$  corresponde a la correlación de las muestras del grupo GE-RES para un par de miR  $i$  y  $\text{cor}_i$  corresponde al promedio de los valores de las tres correlaciones para el par de miR  $i$ .



# CAPÍTULO 4

## *Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular*

---

**Tomé-Carneiro, J.;** González, M.; Larrosa, M.; García-Almagro, F.J.; Avilés-Plaza, F.; Parra, S.; Yáñez-Gascón, M.J.; Ruiz-Ros, J.A.; García-Conesa, M.T.; Tomás-Barberán, F.; Espín, J.C. (2012). Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients from primary prevention of cardiovascular disease. A triple-blind, 6-months follow-up, placebo-controlled, randomized trial. *Mol. Nutr. Food Res.* **56**, 810–821.

**Tomé-Carneiro, J.;** González, M.; Larrosa, M.; Yáñez-Gascón, M.J.; García-Almagro, F.J.; Ruiz-Ros, J.A.; García-Conesa, M.T.; Tomás-Barberán, F.A.; Espín, J.C. (2012). One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease *Am. J. Cardiol.* **110**, 356–363.



## **CAPÍTULO 4**

---

### **4. Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

#### **4.1. Resumen**

La búsqueda de tratamientos complementarios en la prevención primaria (PP) de enfermedades cardiovasculares (ECV) es un reto de alta prioridad. Se han descrito beneficios cardiovasculares para el polifenol resveratrol (RES), en parte ejerciendo efectos antiinflamatorios. Sin embargo, aún no se ha establecido dicha evidencia a través de ensayos clínicos en humanos a largo plazo. En este estudio, pretendíamos investigar los efectos de un extracto de uva enriquecido en RES (GE-RES) sobre el estado inflamatorio y fibrinolítico de individuos con alto riesgo de ECV, sin enfermedad establecida, y tratados de acuerdo con las guías actuales para la PP de ECV. En un ensayo clínico aleatorio, triple ciego, paralelo, dosis-respuesta, controlado con placebo y con 1 año de seguimiento, participaron 75 pacientes. Los pacientes fueron asignados en 3 grupos según producto consumido: placebo (maltodextrina), extracto de uva (GE) y GE-RES, con 8 mg de RES por cápsula además del resto de polifenoles). Estos productos se distribuyeron en la forma de cápsulas. Los pacientes consumieron una cápsula diaria los primeros 6 meses, y 2 cápsulas/día los 6 meses finales. A diferencia de los grupos placebo y GE, en el grupo que consumió GE-RES se observó una disminución significativa (26%,  $P=0,03$ ) en la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), en el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) ( $\approx 20\%$ ,  $P=0,01$ ), en el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) ( $\approx 17\%$ ,  $P=0,03$ ) y en el cociente pro-

inflamatorio IL-6/IL-10 (24%,  $P=0,04$ ), así como un aumento ( $\approx 20\%$ ,  $P=0,00$ ) en la IL-10 (antiinflamatoria). La adiponectina (6,5%,  $P=0,07$ ) y la molécula de adhesión intercelular 1 soluble (ICAM-1) ( $\approx 6\%$ ,  $P=0,06$ ) tendieron a aumentar y disminuir, respectivamente. Respecto a los marcadores aterogénicos, el principal resultado fue la disminución en la apolipoproteína B (ApoB) ( $\approx 9\%$ ,  $P=0,03$ ) y las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox) (-20%,  $P=0,00$ ). No se observaron efectos adversos ni interacciones con fármacos. En conclusión, el consumo de GE-RES durante un año 1 año contribuyó a la mejora en el estado inflamatorio y fibrinolítico de pacientes con alto riesgo cardiovascular, en PP de ECV y bajo tratamiento con estatinas. Nuestros resultados demuestran por primera vez que una intervención dietética con extracto de uva enriquecido en RES podría complementar la terapia “estándar de oro” en la PP de ECV.

## **4.2. Introducción**

El término PP de ECV denota limitar o retrasar un primer evento en individuos que están en riesgo, pero que aún no han sido diagnosticados con enfermedad cardíaca. La aplicación de directrices de prevención es esencial para la gestión óptima de estos individuos porque la ECV es la principal causa de muerte prematura en Europa (Reiner, *et al.*, 2011). Las muertes por ECV han disminuido en los últimos años, pero la epidemia de la obesidad y el creciente envejecimiento de la población apuntan hacia una tendencia futura desfavorable (Banegas, *et al.*, 2011). A este respecto, la PP de ECV es un desafío en todo el mundo y la búsqueda de tratamientos terapéuticos complementarios es de alta prioridad (Libby & Crea, 2010). En PP, las directrices incluyen estilos de vida saludables, reducir la presión arterial, controlar la diabetes, abandono del tabaquismo, terapia antiagregante plaquetaria y el tratamiento de las

## **Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

comorbilidades que también hacen aumentar el riesgo de ECV (Greenland, *et al.*, 2010, Banegas, *et al.*, 2011). El uso de las estatinas como fármacos hipolipemiantes es de primera elección en atención primaria para la corrección de la dislipemia (Banegas, *et al.*, 2011, Reiner, *et al.*, 2011). Sin embargo, la acción de las estatinas en la ApoB o LDLox en el suero no es tan notable como su efecto de reducción en los niveles de colesterol LDL (cLDL). Incluso en pacientes con medicación "estándar de oro" y con los niveles de marcadores controlados, sigue existiendo un riesgo residual (Banegas, *et al.*, 2011).

La inflamación crónica de bajo grado sistémica y la alteración de la ruta fibrinolítica juegan un papel clave en todas etapas de la aterotrombosis (Hansson, 2005). La proteína C reactiva (CRP, del inglés *C-Reactive Protein*), especialmente cuando se mide como CRP de alta sensibilidad (hsCRP), se ha correlacionado con un mayor riesgo de ECV. De hecho, su adición a las guías de riesgo ha mejorado la capacidad de estimar el riesgo cardiovascular a 10 años (Ridker, *et al.*, 2001, Braunwald, 2012). Por lo tanto, las estrategias encaminadas a disminuir la hsCRP podrían mejorar el pronóstico de estos pacientes (Libby & Crea, 2010).

La implementación de una dieta saludable es esencial en PP y se sabe que la adherencia a la dieta mediterránea se relaciona inversamente con la incidencia de ECV (Kastorini, *et al.*, 2011). Hace aproximadamente 2 décadas se describió que el consumo de vino tinto era la explicación para la llamada "Paradoja Francesa" (baja mortalidad debido a ECV en Francia comparada con otros países a pesar de compartir los mismos factores de riesgo) (Renaud & de Lorgeril, 1992). Inicialmente, se identificó al RES como la causa posible de las propiedades beneficiosas del vino tinto (Bertelli, *et al.*, 1998).

Abundantes estudios preclínicos (en modelos *in vitro* y animales), con concentraciones altas de RES, han demostrado beneficios cardiovasculares, mejorando la sensibilidad a la insulina y reduciendo la enfermedad cardíaca isquémica, insuficiencia cardíaca e hipertensión (Petrowski, *et al.*, 2011). A pesar de la expectativa derivada de los beneficios preclínicos de esta molécula, todavía falta corroborar estos efectos a través de ensayos clínicos aleatorios en personas a largo plazo. Con el fin de buscar tratamientos complementarios en la PP, el principal objetivo del estudio incluido en el presente capítulo fue investigar los efectos del GE-RES sobre el estado aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico de pacientes con alto riesgo de ECV y tratados de acuerdo con las guías actuales para PP.

### **4.3. Resultados y Discusión**

#### **4.3.1. Características basales demográficas y clínicas de los pacientes**

En la inclusión (**Capítulo 3**), se registraron las características demográficas, medicación recibida, así como las principales variables bioquímicas y hematológicas, de los pacientes distribuidos aleatoriamente en los tres grupos del estudio: placebo, GE y GE-RES (**Tablas 4.1, 4.2 y 4.4**).

En general, se observó homogeneidad entre los tres grupos en las características demográficas y medicación recibida, excepto que la media de edades en el grupo GE quedó ligeramente por debajo de los otros grupos y que en el grupo GE-RES se encontró una mayor proporción (aunque no estadísticamente significativa) de mujeres (**Tabla 4.1**). Todos los pacientes estaban siendo tratados con estatinas.

**Tabla 4.1.** Características demográficas y medicación de los pacientes (n=75) de prevención primaria de riesgo cardiovascular en la inclusión.

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Edad (años)	63±9	56±11	62±9	$P_{(0)}=0,04$	$P_{(0)}=0,99$	$P_{(0)}=0,06$
Hombres	13 (52)	14 (56)	7 (28)	$P_{(0)}=0,84$	$P_{(0)}=0,10$	$P_{(0)}=0,07$
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29±3	31±5	32±9	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,67$	$P_{(0)}=0,31$
PSS (mm Hg)	129±18	132±18	130±16	$P_{(0)}=0,99$	$P_{(0)}=0,73$	$P_{(0)}=0,71$
PSD (mm Hg)	76±10	77±11	76±9	$P_{(0)}=0,66$	$P_{(0)}=0,85$	$P_{(0)}=0,54$
FC (latidos/min)	68±10	67±9	66±8	$P_{(0)}=0,90$	$P_{(0)}=0,52$	$P_{(0)}=0,60$
Diabetes mellitus n, (%)	9 (36)	12 (48)	11 (44)	$P_{(0)}=0,51$	$P_{(0)}=0,82$	$P_{(0)}=0,67$
Hipertensión, n (%)	23 (92)	20 (80)	22 (88)	$P_{(0)}=0,65$	$P_{(0)}=0,85$	$P_{(0)}=0,74$
Fumadores, n (%)	13 (52)	16 (64)	12 (48)	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,34$
Antiagregantes, n (%):	10 (40)	14 (56)	11 (44)	$P_{(0)}=0,69$	$P_{(0)}=0,83$	$P_{(0)}=0,55$
AAS	9 (36)	13 (52)	10 (40)	$P_{(0)}=0,68$	$P_{(0)}=0,83$	$P_{(0)}=0,53$
Clopidogrel	1 (4)	1 (4)	1 (4)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Estatinas, n (%):	25 (100)	25 (100)	25 (100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Atorvastatina	20 (80)	18 (72)	15 (60)	$P_{(0)}=0,40$	$P_{(0)}=0,30$	$P_{(0)}=0,48$
Rosuvastatina	1 (4)	3 (12)	3 (12)	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=1,00$
Pravastatina	2 (8)	2 (8)	6 (24)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,26$	$P_{(0)}=0,26$
Fluvastatina	2 (8)	2 (8)	1 (4)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,56$	$P_{(0)}=0,56$
BCC, n (%)	9 (36)	7 (28)	3 (12)	$P_{(0)}=0,62$	$P_{(0)}=0,08$	$P_{(0)}=0,21$
Bloqueadores β, n (%)	10 (40)	12 (48)	10 (40)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,65$	$P_{(0)}=0,65$
Inhibidores de ECA, n (%)	3 (12)	3 (12)	1 (4)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=0,32$
BRA, n (%)	18 (72)	17 (68)	18 (72)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,86$

Los valores se presentan como media±DE en el caso de variables cuantitativas o como número de casos (porcentaje) para variables cualitativas.  $P_{(0)}$ , valor de  $P$  en la inclusión. AAS, ácido acetil salicílico; BCC, bloqueadores de canales de calcio; BRA, bloqueadores del receptor de la angiotensina II; ECA, enzima convertora de angiotensina; FC, frecuencia cardiaca; GE, extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; PSD, presión sanguínea diastólica; PSS, presión sanguínea sistólica. La comparación entre grupos se llevó a cabo a través de ANOVA para las variables cuantitativas y del test de Chi cuadrado para las variables cualitativas. Las diferencias significativas ( $P<0,05$ ) están en negrita.

En el análisis estadístico se tuvo en cuenta la posible influencia de las características demográficas o tratamientos farmacológicos de los pacientes, es decir edad, índice de masa corporal, sexo, hipertensión arterial, tabaquismo, *diabetes mellitus*, hipercolesterolemia diagnosticada, medicación antiagregante, bloqueadores β,

bloqueadores del sistema renina-angiotensina, tipo de estatinas y hábitos alimenticios (incluyendo vino tinto y productos derivados de la uva).

El cumplimiento del protocolo del ensayo fue superior al 96% en todos los grupos. Sólo un paciente (perteneciente al grupo placebo) abandonó el estudio antes de su conclusión alegando falta de motivación al cabo de 10 meses.

### **4.3.2. Efectos anti-aterogénicos**

#### **4.3.2.1. Perfil lipídico del suero, niveles de ApoB y LDLox**

Los valores iniciales de las distintas variables relacionadas con el perfil lipídico no presentaron diferencias significativas entre los tres grupos (**Tabla 4.2**).

En los dos momentos de seguimiento tras el comienzo del estudio (6 y 12 meses) no se observaron cambios significativos en el grupo placebo en cualquiera de estas variables (**Tabla 4.3**). Después de 6 meses de ingesta de cápsulas, se observó una ligera disminución de -3,3 mg/dL (Intervalo de Confianza al 95% (IC 95%): -10,6 a -0,4,  $P=0,01$ ) en cLDL en el grupo de pacientes que consumieron extracto de uva (GE), si bien a los 12 meses se perdió la significancia estadística. En el grupo que consumió GE-RES se observó una disminución clara de ApoB, con una bajada ( $\approx$ -10%) respecto a los niveles iniciales de -9,3 mg/dL (IC 95%: -16,4 a -2,  $P=0,01$ ) y -8,1 mg/dL (IC 95%: -16,0 a -0,2,  $P=0,03$ ) tras 6 y 12 meses, respectivamente (**Figura 4.1**). También en el grupo GE-RES, se verificó una reducción significativa ( $\approx$ -20%) en los niveles de LDLox (-14,5 U/L (IC 95%: -19,5 a -9,5),  $P=0,00$ ) después de 6 meses de intervención (**Figura 2**), lo que resultó en una reducción significativa del cociente LDLox/ApoB (-0,01 U/mg (IC 95%: -0,015 a -0,005),  $P=0,00$ ) (**Tabla 4.3**). Desafortunadamente, las muestras destinadas a determinar los valores de LDLox a los 12 meses de intervención



**Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

no se evaluaron como consecuencia de su descongelación seguida de un período prologado a temperatura ambiente. La inutilidad de las muestras quedó reflejada al detectar que todas las mediciones estaban muy por debajo del intervalo de valores esperados según el fabricante del kit ELISA (Merckodia, Suecia).

**Tabla 4.2.** Variables lipídicas séricas determinadas en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular, en la inclusión (n=75).

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Tcol (mg/dL)	187±31	193±54	187±23	$P_{(0)}=0,91$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Triglicéridos (mg/dL)	121±48	121±65	124±52	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
cLDL (mg/dL)	106±27	114±43	110±16	$P_{(0)}=0,72$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
cHDL (mg/dL)	55±13	53±12	54±11	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
No-cHDL (mg/dL)	133±29	140±50	133±20	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
cLDL/cHDL	1,9±0,6	2,2±0,7	2,0±0,4	$P_{(0)}=0,60$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
ApoB (mg/dL)	94,2±16,2	94,6±20,3	94,5±18,4	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
LDLox (U/L)	77,7±20,1	72,1±19,6	72,8±17,8	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
cLDL/ApoB	1,13±0,23	1,21±0,26	1,16±0,14	$P_{(0)}=0,63$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
cLDL/LDLox (mg/U)	14,6±4,6	16,0±5,1	16,1±4,1	$P_{(0)}=0,66$	$P_{(0)}=0,54$	$P_{(0)}=1,00$
LDLox/ApoB (U/mg)	0,08±0,01	0,07±0,02	0,08±0,02	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
No-cHDL/ApoB	1,41±0,25	1,49±0,20	1,41±0,14	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$

Los valores se presentan como media±DE.  $P_{(0)}$ ,  $P$  en la inclusión (obtenido con ANOVA). ApoB, apolipoproteína B; cHDL, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; cLDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; GE, extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; LDLox, LDL oxidadas; No-cHDL, colesterol sin incluir la porción cHDL (Tcol-cHDL); Tcol, colesterol total.

**Tabla 4.3.** Cambios en variables lipídicas del suero en los pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses de ensayo.

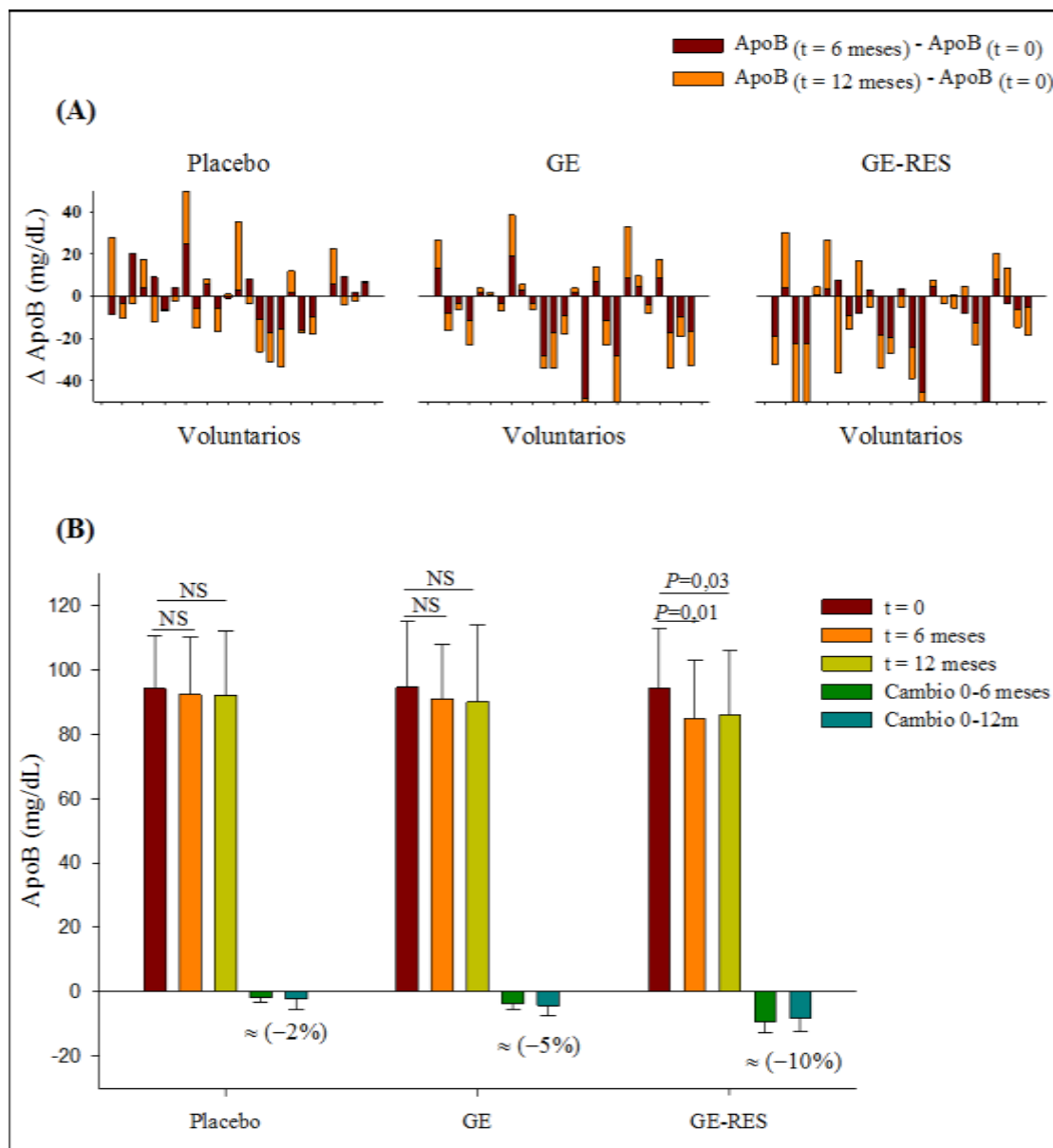
Variable	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos			
	Meses	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
TCol (mg/dL) (131-201)	6	191±35	186±45	185±34	$P_{(0-6)}=0,48$ $P_{(6-12)}=0,15$	$P_{(0-6)}=0,26$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,66$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$
	12	176±32	182±44	180±39	$P_{(0-12)}=0,48$	$P_{(0-12)}=0,39$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$
Triglicéridos (mg/dL) (35-201)	6	132±65	121±59	127±65	$P_{(0-6)}=0,15$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,95$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,73$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$
	12	133±57	122±55	119±44	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$
cLDL (mg/dL) (83-130)	6	104±27	111±40	105±22	$P_{(0-6)}=0,67$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,01 \downarrow 3\%$ $P_{(6-12)}=0,12$	$P_{(0-6)}=0,04 \downarrow 4\%$ $P_{(6-12)}=0,16$	$P_{(6)}=0,22$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,66$
	12	97±29	106±39	100±32	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$
cHDL (mg/dL) (35-91)	6	56±11	52±12	55±13	$P_{(0-6)}=0,71$ $P_{(6-12)}=0,33$	$P_{(0-6)}=0,83$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,79$ $P_{(6-12)}=0,32$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$
	12	53±12	52±12	57±13	$P_{(0-12)}=0,96$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(0-12)}=0,38$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=0,84$	$P_{(12)}=0,46$
No-cHDL (mg/dL)	6	136±34	133±43	130±23	$P_{(0-6)}=0,48$ $P_{(6-12)}=0,12$	$P_{(0-6)}=0,23$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,67$ $P_{(6-12)}=0,65$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$
	12	123±30	130±40	124±35	$P_{(0-12)}=0,21$	$P_{(0-12)}=0,28$	$P_{(0-12)}=0,34$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=1,00$
ApoB (mg/dL)	6	92±18	91±17	85±18	$P_{(0-6)}=0,47$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,23$ $P_{(6-12)}=0,77$	$P_{(0-6)}=0,01 \downarrow 10\%$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,47$	$P_{(6)}=0,64$
	12	92±20	90±24	86±20	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(0-12)}=0,10$	$P_{(0-12)}=0,03 \downarrow 9\%$	$P_{(12)}=0,69$	$P_{(12)}=0,19$	$P_{(12)}=0,29$
LDLox (U/L)	6	75±22	69±20	58±16	$P_{(0-6)}=0,38$	$P_{(0-6)}=0,82$	$P_{(0-6)}=0,00 \downarrow 20\%$	$P_{(6)}=0,98$	$P_{(6)}=0,10$	$P_{(6)}=0,58$
	12	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-
cLDL/ApoB	6	1,15±0,23	1,22±0,27	1,23±0,25	$P_{(0-6)}=0,69$ $P_{(6-12)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,90$ $P_{(6-12)}=0,33$	$P_{(0-6)}=0,11$ $P_{(6-12)}=0,27$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,66$	$P_{(6)}=0,90$
	12	1,07±0,26	1,16±0,28	1,16±0,20	$P_{(0-12)}=0,40$	$P_{(0-12)}=0,60$	$P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(12)}=0,62$	$P_{(12)}=0,57$	$P_{(12)}=1,00$
cLDL/cHDL	6	1,88±0,61	2,12±0,80	1,93±0,43	$P_{(0-6)}=0,25$ $P_{(6-12)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,06$ $P_{(6-12)}=0,36$	$P_{(0-6)}=0,19$ $P_{(6-12)}=0,52$	$P_{(6)}=0,12$	$P_{(6)}=0,65$	$P_{(6)}=0,19$
	12	1,89±0,64	2,04±0,79	1,89±0,45	$P_{(0-12)}=0,21$	$P_{(0-12)}=0,08$	$P_{(0-12)}=0,09$	$P_{(12)}=0,64$	$P_{(12)}=1,00$	$P_{(12)}=0,59$
cLDL/LDLox (mg/U)	6	15±5	16±7	18±5	$P_{(0-6)}=0,99$	$P_{(0-6)}=0,36$	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(6)}=0,03$	$P_{(6)}=0,00$	$P_{(6)}=1,00$
	12	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-

**Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

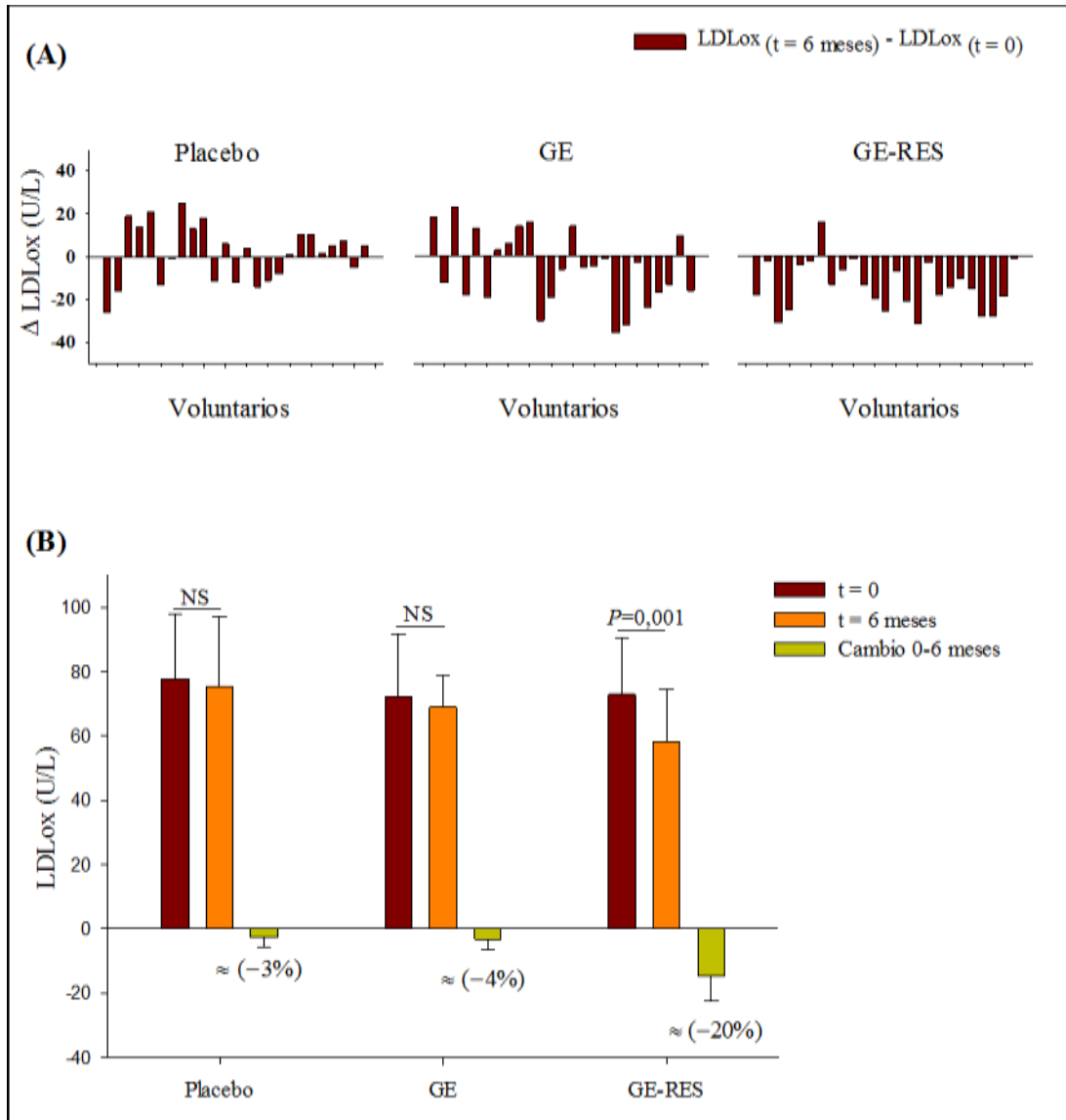
LDLox/ ApoB (U/mg)	6	0,08±0,02	0,08±0,02	0,07±0,01	$P_{(0-6)}=0,93$	$P_{(0-6)}=0,79$	$P_{(0-6)}=0,00$ ↓13%	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,04$	$P_{(6)}=0,44$
	12	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-
No_cHDL/ ApoB	6	1,48±0,21	1,46±0,20	1,53±0,16	$P_{(0-6)}=0,08$	$P_{(0-6)}=0,40$	$P_{(0-6)}=0,046$ ↑9%	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,56$
	12	1,35±0,27	1,44±0,22	1,45±0,15	$P_{(6-12)}=0,06$ $P_{(0-12)}=0,21$	$P_{(6-12)}=0,59$ $P_{(0-12)}=0,63$	$P_{(6-12)}=0,11$ $P_{(0-12)}=0,32$	$P_{(12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,28$	$P_{(12)}=1,00$

Los valores se expresan como media±DE. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 de 6 hasta 12 meses. Tcol, colesterol total; cHDL, colesterol HDL; cLDL, colesterol LDL; HDL, lipoproteínas de alta densidad; LDL, lipoproteínas de baja densidad; No-cHDL, colesterol sin incluir la porción correspondiente a las lipoproteínas de alta densidad (No-cHDL = Tcol-cHDL); ApoB, apolipoproteína B; LDLox, LDL oxidadas. Las diferencias significativas intra- e inter-grupos ( $P<0,05$ ) tras 6 meses de ingesta están en negrita. Las flechas señalan el porcentaje de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Se muestran los valores de referencia (entre paréntesis) establecidos en el hospital para Tcol, cHDL, cLDL y triglicéridos.

Las **Figuras 1** y **2** ilustran los cambios de cada paciente y la media de cada grupo en los valores de ApoB (tras 6 y 12 meses de intervención) y LDLox (6 meses), respectivamente.



**Figura 4.1.** (A) Cambio en los valores de ApoB en los pacientes dentro de cada grupo tras de 6 y 12 meses de intervención. La ordenada con valor 0 significa ausencia de cambio. Los valores positivos y negativos indican aumento y disminución de ApoB, respectivamente. (B) Promedio de los valores de ApoB en cada grupo en los tres momentos de colecta de muestras: antes del inicio de la intervención, y tras 6 y 12 meses de consumo de los productos del estudio, y correspondientes porcentajes de cambio respecto a los valores iniciales.

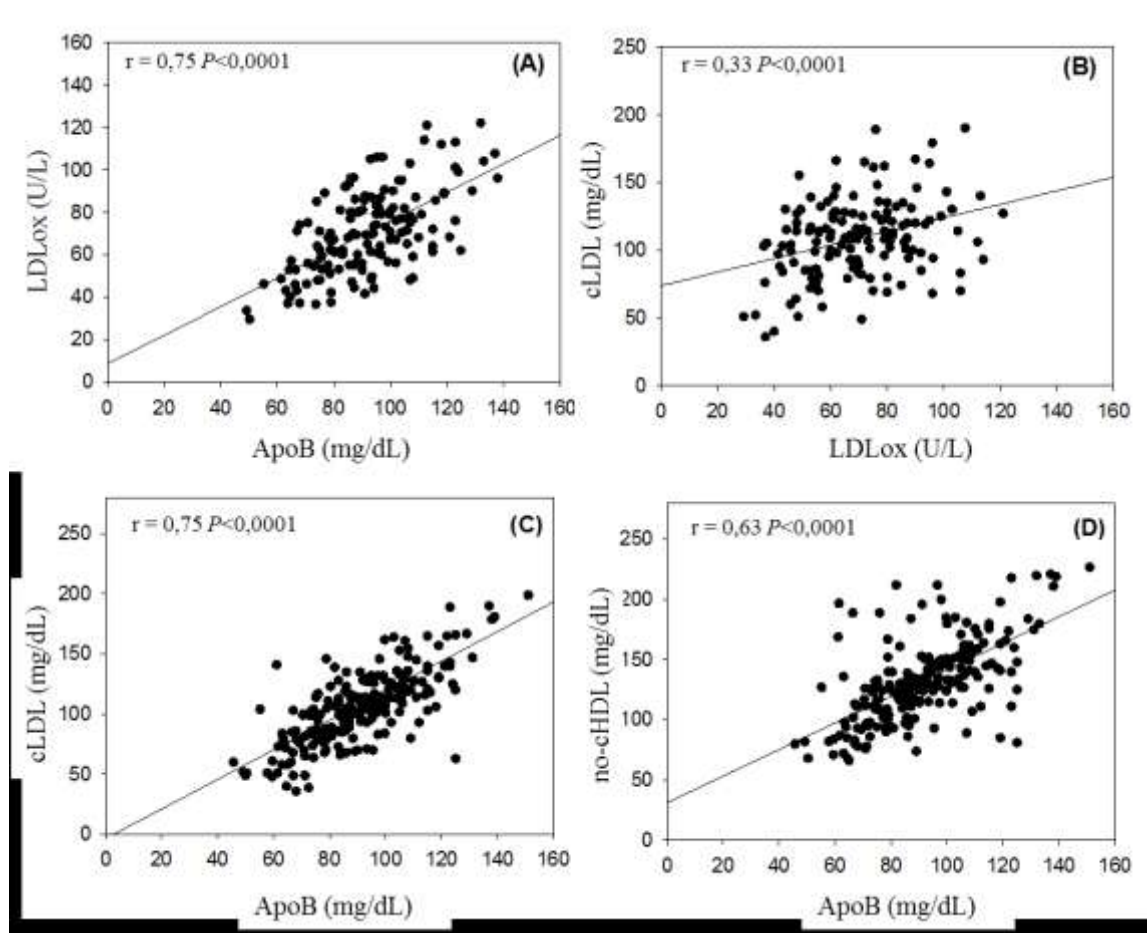


**Figura 4.2.** (A) Cambio en los valores de LDLox en los pacientes dentro de cada grupo tras de 6 meses de intervención. La ordenada con valor 0 significa ausencia de cambio. Los valores positivos y negativos indican aumento y disminución de LDLox, respectivamente. (B) Promedio de los valores de LDLox en cada grupo antes y después de 6 meses de intervención, y correspondiente porcentaje de cambio.

Además, en el grupo que consumió GE-RES, también se observó una disminución de cLDL (-5 mg/dL (IC 95%: -14 a -4),  $P=0,04$ ) tras 6 meses de intervención, así como un aumento en el cociente no-cHDL/ApoB (0,12 (IC 95%: 0,04 a 0,13),  $P=0,046$ ), aunque a los 12 meses estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (**Tabla 4.3**). Tras 6 meses, los cocientes cLDL/ApoB (6%,  $P=0,11$ ) y cLDL/LDLox (11%,  $P=0,09$ ) tendieron a ser mayores en el grupo GE-RES, pero las tendencias no se

confirmaron tras 12 meses de intervención (**Tabla 4.3**). Después de 6 meses de intervención, se observaron diferencias significativas para el cociente cLDL/LDLox entre el grupo placebo y los grupos GE y GE-RES, así como para LDLox/ApoB entre los grupos placebo y GE-RES. Por otra parte, los grupos placebo y GE-RES tendieron a ser diferentes en relación a las LDLox ( $P=0,10$ ).

En general, los pares LDLox-ApoB, cLDL-LDLox, cLDL-ApoB, y no-cHDL-ApoB presentaron una correlación positiva y significativa entre sí (**Figura 4.3**).



**Figura 4.3.** Correlación obtenida para los pares LDLox-ApoB (A), cLDL-LDLox (B), cLDL-ApoB (C) y no-cHDL-ApoB (D). Para los pares en las figuras A y B, se encuentran representados los valores iniciales y tras 6 meses de estudio, de todos los voluntarios. Para los pares en las figuras C y D, se encuentran representados los valores iniciales, tras 6 y 12 meses de estudio, de todos los voluntarios.

Los coeficientes de correlación más elevados (0,75;  $P<0,00$ ) se obtuvieron para los pares LDLox-ApoB (**Figura 4.3A**) y cLDL-ApoB (**Figura 4.3C**). A pesar de no ser tan elevada como las dos referidas anteriormente, la correlación encontrada para el par no-cHDL-ApoB también fue relevante (**Figura 4.3D**;  $r=0,63$ ;  $P<0,00$ ). La menor asociación se observó para el par cLDL-LDLox (**Figura 4.3B**;  $r=0,33$ ;  $P<0,00$ ).

#### **4.3.2.2. Discusión**

El consumo GE-RES mejoró los niveles de diversos marcadores lipídicos importantes, incluidos en el perfil aterogénico asociado al riesgo de ECV. Esto es especialmente importante si consideramos que los pacientes estaban controlados totalmente según su riesgo cardiovascular y de acuerdo con las guías para el manejo de las dislipidemias (Reiner, *et al.*, 2011) y PP de ECV en la práctica clínica (Graham, *et al.*, 2007, Greenland, *et al.*, 2010). Todos los pacientes estaban siendo tratados con estatinas y muchos de ellos también con antiagregantes (principalmente ácido acetil salicílico).

El uso de suplementos dietéticos para bajar la concentración de cLDL y otros marcadores lipídicos ha sido abordado en estudios previos, aunque sólo unos pocos se han realizado siguiendo rigurosos protocolos de ensayos clínicos aleatorios y controlados (Nijjar, *et al.*, 2010). Se han descrito diversos suplementos, incluyendo la coenzima Q10, esteroides/estanoles, fibra dietética soluble y ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA), entre otros, que han sido previamente analizados en diferentes estudios clínicos en tratamiento concomitante con estatinas. Actualmente, existen evidencias de que el consumo de varios gramos diarios de fitoesteroides/fitoestanoles o ácidos grasos poli-insaturados omega-3 junto con estatinas

reduce el colesterol total y cLDL. Sin embargo, los datos no son concluyentes en el caso de la fibra soluble o de la coenzima Q10 (Eussen, *et al.*, 2010). Hasta donde sabemos, no se ha estudiado previamente el efecto de productos derivados de la uva en los valores lipídicos del suero de pacientes tratados con estatinas, lo que hace difícil establecer una comparación directa entre nuestros resultados con los de otros estudios. En el presente estudio, observamos una discreta disminución de los valores de cLDL tras el consumo de GE o GE-RES (**Tabla 4.3**). Sin embargo, este resultado es muy positivo en pacientes hipercolesterolémicos cuyo tratamiento con estatinas se ha optimizado para alcanzar una concentración objetivo de cLDL. En otros ensayos controlados por placebo en personas, con productos derivados de la uva en mujeres sanas pre- y postmenopáusicas (Zern, *et al.*, 2005), así como en pacientes de diálisis sin tratamiento con estatinas (Castilla, *et al.*, 2008), se ha observado una efectividad similar o ligeramente superior, pero con mayores ingestas de polifenoles de uva que en el presente estudio.

Aunque el control de cLDL es un objetivo muy importante en la PP de ECV, algunos pacientes tratados de forma óptima y con niveles optimizados de cLDL, siguen sufriendo eventos adversos asociados a la presencia de un riesgo residual no totalmente controlado (Rosenson, *et al.*, 2010). De hecho, existen evidencias crecientes que ponen de manifiesto la limitación del uso de los niveles de cLDL y no-cHDL como únicos marcadores de riesgo residual de ECV en la terapia hipolipemiente (Idris, *et al.*, 2011). El control de la concentración de la fracción lipídica aterogénica en sangre es algo muy importante, pero lo es más evitar la oxidación de ésta, que es lo que entraña el verdadero riesgo cardiovascular.

En el presente estudio, el grupo GE-RES mostró una disminución significativa en los niveles de ApoB y LDLox a pesar de la ligera modificación en la concentración de cLDL (**Tabla 4.3, Figuras 4.1 y 4.2**). En este contexto, se ha sugerido que la ApoB es



un mejor indicador de riesgo de ECV y una mejor diana en el tratamiento que la concentración de cLDL (Charlton-Menys, *et al.*, 2009, Rosenson, *et al.*, 2010) o de no-cHDL (Sniderman, *et al.*, 2011). Estas observaciones se deben a la correlación lineal establecida entre altos niveles de ApoB y partículas de cLDL de pequeño tamaño, las cuales se oxidan fácilmente para originar partículas LDLox aterogénicas (Ehara, *et al.*, 2001, Burgos-Alves, *et al.*, 2010). Esto concuerda con la fuerte correlación observada en el presente estudio para el par LDLox-ApoB (**Figura 4.3A**). A diferencia de esto, la correlación entre cLDL y LDLox fue mucho menor (**Figura 4.3B**). Esto es así porque en este caso, la concentración de cLDL total contiene una mezcla heterogénea de partículas grandes y pequeñas con diferente susceptibilidad a la oxidación, lo que explica la pobre correlación observada. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que los efectos del GE-RES se relacionan principalmente con la disminución de la aterogenicidad de las partículas de cLDL y se asocian a la disminución de LDLox y ApoB, lo cual está en la línea de las dianas terapéuticas futuras en PP de riesgo cardiovascular (Rosenson, *et al.*, 2010). La modificación de estas variables es muy relevante en pacientes de PP con medicación optimizada, y viene apoyada por la correlación observada en el par no-cHDL/ApoB (**Figura 4.3D**). De hecho, los pacientes en el grupo GE-RES alcanzaron los niveles óptimos de ApoB (<90 mg/dL) propuestos por la Sociedad Cardiovascular Canadiense como objetivo principal terapéutico (Grundy, 2002, Genest, *et al.*, 2003). Sin embargo, a pesar del valor emergente de ApoB y LDLox a nivel clínico, estos marcadores aún no han sido incluidos en las guías para cálculo de riesgo global (Graham, *et al.*, 2007), siendo este un debate actual entre cardiólogos (Sniderman, *et al.*, 2011).

Recientemente, nuestro grupo observó que la formulación específica de GE-RES fue capaz de prevenir el estrés oxidativo vascular y lesiones ateroscleróticas tempranas

en la aorta de cerdos alimentados con una dieta aterogénica (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2012a). Los efectos estaban mediados, al menos en parte, por una reducción en el estrés oxidativo vascular (disminución de radicales anión superóxido en el tejido aórtico) y por la regulación de la expresión de los supresores de señalización de citoquinas 1 y 3 (SOCS-1 y -3). Estos efectos fueron menos significativos en cerdos suplementados con uva control (GE) o RES por sí solo, donde los efectos observados fueron más bien discretos. Los resultados obtenidos en ese estudio con cerdos sugirieron que el efecto antioxidante se debía principalmente a los polifenoles de la uva y que la regulación de SOCS-1 y 3 era modulada principalmente por el RES.

En el presente estudio, la asociación específica de polifenoles de uva y RES parece ejercer efectos beneficiosos más allá de la medicación optimizada para pacientes de PP de riesgo cardiovascular, puesto que el efecto del extracto uva convencional, sin RES, fue bastante menor. Se ha sugerido, en un modelo de hámster hipercolesterolémico, que el mecanismo hipolipemiante subyacente del RES parece ser similar al de las estatinas en el sentido de que ejerce un efecto inhibitor en la acción de la enzima HMG-CoA (Cho, *et al.*, 2008). En este contexto, se ha demostrado previamente que una combinación de estatinas (pravastatina, dosis equivalente humana (HED) de 11 mg/día para una persona de 70 kg) y RES (HED de 225 mg/día para una persona de 70 kg) fue más eficaz contra el infarto de miocardio en ratas hipercolesterolémicas que las estatinas por sí solas (Penumathsa, *et al.*, 2007).

### 4.3.3. Efectos anti-inflamatorios/-fibrinolíticos

#### 4.3.3.1. Perfil inflamatorio y fibrinolítico

Los valores de las variables incluidas en el perfil inflamatorio y fibrinolítico medidas antes del inicio de la toma de los productos del estudio no presentaron diferencias significativas entre los tres grupos (**Tabla 4.4**).

**Tabla 4.4.** Variables referentes al perfil inflamatorio y fibrinolítico determinadas en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular, en la inclusión del estudio (n=75).

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
hsCRP (mg/L)	4,4±4,3	3,2±2,5	5,0±3,7	$P_{(0)}=0,20$	$P_{(0)}=0,85$	$P_{(0)}=0,16$
Adiponectina (µg/mL)	14,3±8,1	14,8±5,9	15,4±9,9	$P_{(0)}=0,27$	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,60$
TNF-α (pg/mL)	13,4±11,8	10,5±10,6	16,2±16,2	$P_{(0)}=0,43$	$P_{(0)}=0,46$	$P_{(0)}=0,14$
IL-6 (pg/mL)	1,6±1,3	1,6±1,5	1,7±1,1	$P_{(0)}=0,91$	$P_{(0)}=0,84$	$P_{(0)}=0,76$
IL-10 (pg/mL)	9,8±6,8	9,9±6,2	9,6±7,8	$P_{(0)}=0,41$	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,29$
IL-6/IL-10	0,28±0,35	0,20±0,22	0,25±0,31	$P_{(0)}=0,68$	$P_{(0)}=0,40$	$P_{(0)}=0,60$
IL-18 (pg/mL)	216±131	227±145	184±117	$P_{(0)}=0,92$	$P_{(0)}=0,88$	$P_{(0)}=0,82$
sICAM-1 (ng/mL)	364±112	353±106	342±86	$P_{(0)}=0,70$	$P_{(0)}=0,47$	$P_{(0)}=0,73$
Fibrinógeno (g/L)	3,6±0,7	3,3±0,5	3,7±0,6	$P_{(0)}=0,27$	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,18$
PAI-1 (ng/mL)	17,5±5,2	17,1±10,9	16,7±6,7	$P_{(0)}=0,85$	$P_{(0)}=0,73$	$P_{(0)}=0,87$
Dímero D (mg/L)	0,11±0,06	0,11±0,08	0,13±0,09	$P_{(0)}=0,79$	$P_{(0)}=0,15$	$P_{(0)}=0,24$

Los valores se presentan como media±DE.  $P_{(0)}$ ,  $P$  en la inclusión (obtenido con ANOVA). GE, extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; PAI-1, inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1; sICAM-1, molécula de adhesión intercelular soluble 1; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa.

Al inicio del ensayo se encontraron correlaciones significativas entre los pares hsCRP-PAI-1 ( $r=0,39$ ;  $P<0,00$ ), IL-6-hsCRP ( $r=0,43$ ;  $P<0,00$ ), TNF-α-hsCRP ( $r=0,38$ ;  $P<0,00$ ), adiponectina-sICAM-1 ( $r=-0,41$ ;  $P<0,00$ ), e IL-18-sICAM-1 ( $r=0,46$ ;  $P<0,00$ ),

en los tres grupos de pacientes y que está de acuerdo con el desarrollo patofisiológico de la enfermedad cardiovascular.

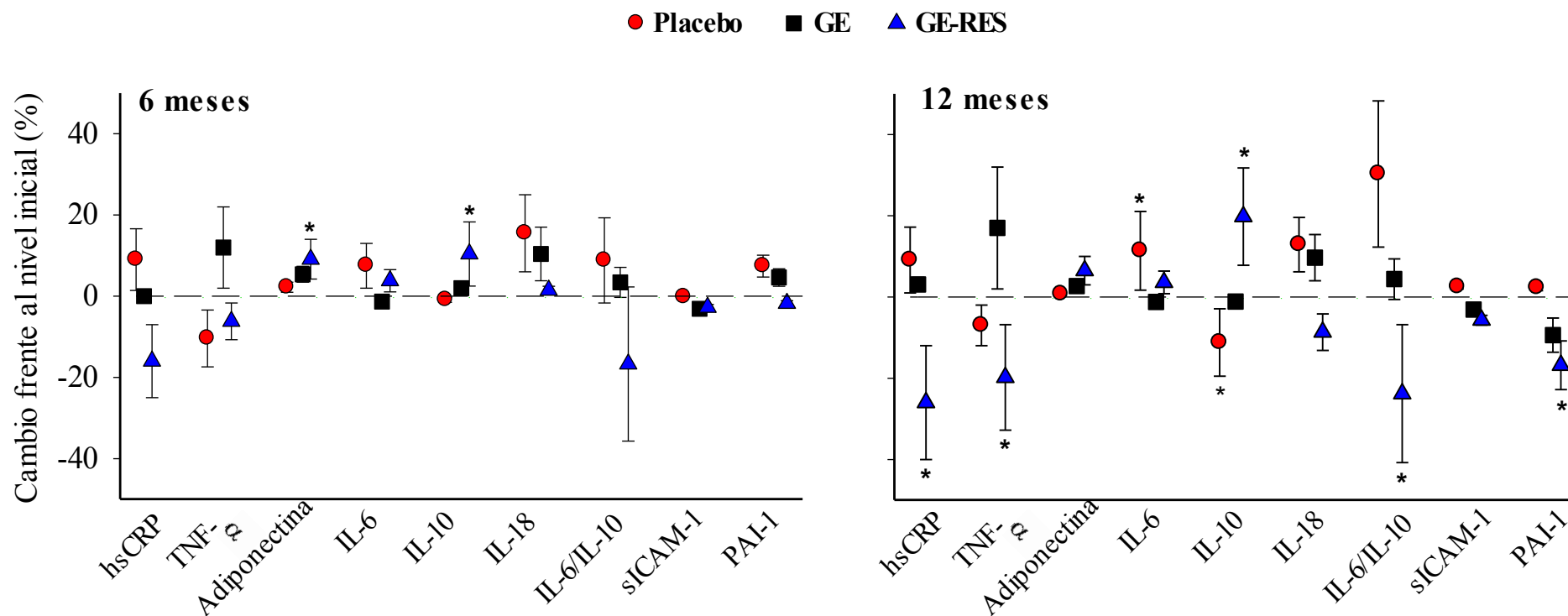
Tras la distribución aleatoria de los pacientes, el porcentaje de pacientes con valores de hsCRP superiores a 3 mg/L era de 54, 32 y 48% en los grupos placebo, GE and GE-RES, respectivamente. En el grupo placebo, se observó un leve aumento en la IL-6 durante los primeros 6 meses de estudio, que se convirtió en significativo ( $\approx 11\%$ ) al final de la intervención (0,19 pg/mL (IC 95%: 0,05 a 3,7)). Por el contrario, a los 12 meses, la IL-10 (antiinflamatoria) disminuyó (-1,1 pg/mL (IC 95%: -1,9 a -0,2)) (**Tabla 4.5**), lo que resultó en un aumento significativo del cociente pro-inflamatorio IL-6/IL-10 (**Tabla 4.5**). Los otros marcadores no sufrieron alteraciones significativas en este grupo.

En el grupo que consumió GE, ningún marcador presentó cambios significativos después de 12 meses de intervención (**Tabla 4.5**). En cambio, en el grupo GE-RES, se observó una disminución media de 1,3 mg/L (IC 95%: -2,5 a -0,09) en la hsCRP (el principal marcador inflamatorio estudiado) (**Tabla 4.5**). Este biomarcador disminuyó en 20 de los 25 pacientes de este grupo y el porcentaje de pacientes con valores de hsCRP  $>3\text{mg/L}$  (utilizado para la estratificación del riesgo de ECV) se redujo de un 48% en el inicio, a un 30% al final del ensayo. Por el contrario, esta proporción no cambió en los grupos placebo y GE. Los marcadores TNF- $\alpha$  y PAI-1 también disminuyeron en el grupo GE-RES (-3,18 pg/mL (IC 95%: -5,3 a -0,7) y -2,8 ng/mL (IC 95%: -5,2 a -0,2), respectivamente) (**Tabla 4.5**). El cociente IL-6/IL-10 disminuyó (-0,06 (IC 95%: -1,2 a -0,01)) principalmente debido al aumento de IL-10 (1,9 pg/mL (IC 95%: 1,3 a 2,5)). La molécula de adhesión sICAM-1 disminuyó con un nivel de significación marginal (**Tabla 4.5**). La adiponectina aumentó significativamente ( $\approx 9\%$ ) después de 6 meses (1,4 mg/mL (IC 95%: 0,1 a 3,3)) y 12 meses de intervención en comparación con los niveles iniciales, aunque en el último caso el nivel de significación fue marginal

### **Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

( $0,05 \leq P \leq 0,10$ ) (**Tabla 4.5**). La IL-18 disminuyó con el tiempo, pero no de forma significativa, y la IL-6 no presentó cambios. Posteriormente se investigó si todos estos cambios estaban correlacionados para cada paciente en el grupo GE-RES y se encontró una correlación significativa entre la disminución de hsCRP y TNF- $\alpha$  ( $r=0,52$ ;  $P=0,00$ ), así como entre hsCRP y PAI-1 ( $r=0,51$ ;  $P=0,00$ ). También se encontró una correlación significativa entre la disminución de sICAM-1 e IL-18 ( $r=0,66$ ;  $P=0,00$ ), así como en el aumento de adiponectina y la disminución de sICAM-1 ( $r=-0,58$ ;  $P=0,00$ ). Además de los cambios significativos observados en el tiempo, las diferencias entre los grupos también fueron significativas para IL-10 (GE vs GE-RES), y para sICAM-1 y PAI-1 (placebo vs GE-RES) (**Tabla 4.5**).

La **Figura 2** muestra el impacto del consumo de cada producto en los marcadores inflamatorios y PAI-1 tras 6 y 12 meses de intervención con respecto a sus valores iniciales. Aunque algunos cambios entre grupos no alcanzaron la significación estadística establecida, la **Figura 2** muestra claramente la diferencia encontrada entre grupos, en algunos marcadores, como son los casos de la hsCRP, TNF- $\alpha$ , y cociente IL-6/IL-10, al final del ensayo.



**Figura 4.4.** Porcentaje de cambios en los niveles de inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1 (PAI-1) y de marcadores relacionados con la inflamación tras 6 y 12 meses de estudio frente a los valores iniciales. GE, extracto de uva convencional; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol. Los voluntarios consumieron 1 cápsula/día durante los primeros 6 meses del ensayo y 2 cápsulas/día durante los 6 meses siguientes. Los cambios se expresan como media $\pm$ DE. Los asteriscos señalan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) frente a los valores iniciales. hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; IL, interleuquina; sICAM-1, molécula de adhesión intercelular soluble tipo 1.

**Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

**Tabla 4.5.** Cambios en variables relacionadas con inflamación y fibrinólisis en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses.

Variable	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos			
	Meses	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
hsCRP (mg/L)	6	4,8±4,1	3,2±2,0	4,2±2,6	$P_{(0-6)}=0,46$	$P_{(0-6)}=0,97$	$P_{(0-6)}=0,12$	$P_{(6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,34$	$P_{(6)}=0,38$
	12	4,8±4,3	3,3±1,8	3,7±2,8	$P_{(6-12)}=0,91$ $P_{(0-12)}=0,43$	$P_{(6-12)}=0,53$ $P_{(0-12)}=0,65$	$P_{(6-12)}=0,24$ $P_{(0-12)}=0,03 \downarrow 26\%$	$P_{(12)}=0,09$	$P_{(12)}=0,16$	$P_{(12)}=0,79$
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	6	12,1±8,9	11,8±10,4	15,2±13,9	$P_{(0-6)}=0,37$	$P_{(0-6)}=0,40$	$P_{(0-6)}=0,43$	$P_{(6)}=0,91$	$P_{(6)}=0,34$	$P_{(6)}=0,29$
	12	12,4±8,9	12,7±10,9	13,0±12,9	$P_{(6-12)}=0,59$ $P_{(0-12)}=0,78$	$P_{(6-12)}=0,26$ $P_{(0-12)}=0,53$	$P_{(6-12)}=0,00 \downarrow 14\%$ $P_{(0-12)}=0,01 \downarrow 20\%$	$P_{(12)}=0,93$	$P_{(12)}=0,86$	$P_{(12)}=0,92$
Adiponectin a ( $\mu$ g/mL)	6	14,6±8,2	15,6±5,7	16,8±9,1	$P_{(0-6)}=0,67$	$P_{(0-6)}=0,37$	$P_{(0-6)}=0,03 \uparrow 9\%$	$P_{(6)}=0,29$	$P_{(6)}=0,34$	$P_{(6)}=0,91$
	12	14,4±7,8	15,2±5,3	16,4±8,9	$P_{(6-12)}=0,48$ $P_{(0-12)}=0,83$	$P_{(6-12)}=0,42$ $P_{(0-12)}=0,56$	$P_{(6-12)}=0,38$ $P_{(0-12)}=0,07$	$P_{(12)}=0,28$	$P_{(12)}=0,36$	$P_{(12)}=0,86$
IL-6 (pg/mL)	6	1,7±1,3	1,6±1,4	1,8±1,3	$P_{(0-6)}=0,32$	$P_{(0-6)}=0,79$	$P_{(0-6)}=0,39$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,89$	$P_{(6)}=0,59$
	12	1,8±1,5	1,6±1,5	1,8±1,4	$P_{(6-12)}=0,42$ $P_{(0-12)}=0,04 \uparrow 11\%$	$P_{(6-12)}=0,98$ $P_{(0-12)}=0,58$	$P_{(6-12)}=0,93$ $P_{(0-12)}=0,56$	$P_{(12)}=0,55$	$P_{(12)}=0,91$	$P_{(12)}=0,64$
IL-10 (pg/mL)	6	9,4±6,6	10,1±6,5	10,6±8,1	$P_{(0-6)}=0,20$	$P_{(0-6)}=0,74$	$P_{(0-6)}=0,00 \uparrow 10\%$	$P_{(6)}=0,61$	$P_{(6)}=0,45$	$P_{(6)}=0,17$
	12	8,7±6,5	9,8±5,9	11,5±8,4	$P_{(6-12)}=0,01 \downarrow 7\%$ $P_{(0-12)}=0,01 \downarrow 11\%$	$P_{(6-12)}=0,20$ $P_{(0-12)}=0,78$	$P_{(6-12)}=0,00 \uparrow 9\%$ $P_{(0-12)}=0,00 \uparrow 20\%$	$P_{(12)}=0,68$	$P_{(12)}=0,15$	$P_{(12)}=0,04$
IL-6/IL10	6	0,31±0,04	0,21±0,23	0,21±0,26	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(0-6)}=0,59$	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,38$	$P_{(6)}=0,16$	$P_{(6)}=0,49$
	12	0,37±0,49	0,21±0,25	0,19±0,25	$P_{(6-12)}=0,24$ $P_{(0-12)}=0,07$	$P_{(6-12)}=0,86$ $P_{(0-12)}=0,58$	$P_{(6-12)}=0,07$ $P_{(0-12)}=0,04 \downarrow 24\%$	$P_{(12)}=0,43$	$P_{(12)}=0,20$	$P_{(12)}=0,51$
IL-18 (pg/mL)	6	250±154	251±161	187±126	$P_{(0-6)}=0,17$	$P_{(0-6)}=0,18$	$P_{(0-6)}=0,77$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,55$	$P_{(6)}=0,55$
	12	244±127	249±148	168±89	$P_{(6-12)}=0,67$ $P_{(0-12)}=0,16$	$P_{(6-12)}=0,90$ $P_{(0-12)}=0,17$	$P_{(6-12)}=0,21$ $P_{(0-12)}=0,14$	$P_{(12)}=0,96$	$P_{(12)}=0,18$	$P_{(12)}=0,17$
sICAM-1 (ng/mL)	6	363±80	342±96	333±83	$P_{(0-6)}=0,96$	$P_{(0-6)}=0,15$	$P_{(0-6)}=0,23$	$P_{(6)}=0,38$	$P_{(6)}=0,23$	$P_{(6)}=0,72$
	12	374±69	342±110	323±71	$P_{(6-12)}=0,39$ $P_{(0-12)}=0,62$	$P_{(6-12)}=0,98$ $P_{(0-12)}=0,55$	$P_{(6-12)}=0,19$ $P_{(0-12)}=0,06$	$P_{(12)}=0,19$	$P_{(12)}=0,04$	$P_{(12)}=0,46$
PAI-1 (ng/mL)	6	18,8±6,9	17,9±8,4	16,4±7,5	$P_{(0-6)}=0,30$	$P_{(0-6)}=0,48$	$P_{(0-6)}=0,86$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,28$	$P_{(6)}=0,50$
	12	17,9±5,9	15,5±8,7	13,9±5,8	$P_{(6-12)}=0,31$ $P_{(0-12)}=0,54$	$P_{(6-12)}=0,05$ $P_{(0-12)}=0,27$	$P_{(6-12)}=0,01 \downarrow 15\%$ $P_{(0-12)}=0,03 \downarrow 17\%$	$P_{(12)}=0,21$	$P_{(12)}=0,04$	$P_{(12)}=0,42$
Dimero D (mg/L) (0-0,3)	6	0,09±0,06	0,09±0,03	0,12±0,09	$P_{(0-6)}=0,11$	$P_{(0-6)}=0,15$	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,63$	$P_{(6)}=0,00$	$P_{(6)}=0,01$
	12	0,12±0,10	0,09±0,04	0,10±0,06	$P_{(6-12)}=0,09$ $P_{(0-12)}=0,71$	$P_{(6-12)}=0,87$ $P_{(0-12)}=0,42$	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,04 \downarrow 18\%$	$P_{(12)}=0,07$	$P_{(12)}=0,19$	$P_{(12)}=0,48$

**Tabla 4.5 (cont.).** Cambios en variables relacionadas con inflamación y fibrinólisis en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses.

Variable	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos			
	Meses	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Fibrinógeno (g/L) (2-4,5)	6	3,4±0,6	3,3±0,5	3,6±0,6	$P_{(0-6)}=0,56$	$P_{(0-6)}=0,68$	$P_{(0-6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,12$	$P_{(6)}=0,29$	$P_{(6)}=0,01$
	12	3,8±0,6	3,5±0,3	3,6±0,2	$P_{(6-12)}=0,41$ $P_{(0-12)}=0,97$	$P_{(6-12)}=0,33$ $P_{(0-12)}=0,30$	$P_{(6-12)}=0,79$ $P_{(0-12)}=0,62$	$P_{(12)}=0,39$	$P_{(12)}=0,58$	$P_{(12)}=0,82$

Los valores se expresan como media±DE. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 cápsulas de los 6 hasta los 12 meses de ensayo. GE, extracto de uva convencional; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; PAI-1, inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1; sICAM-1, molécula de adhesión intercelular soluble tipo 1; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa. Las flechas señalan el % de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Las diferencias significativas ( $P<0,05$ ) están en negrita. Se muestran los valores de referencia (entre paréntesis) establecidos en el hospital para el fibrinógeno y el dímero D



#### **4.3.3.2. Discusión**

En el presente estudio se describe por primera vez que una intervención dietética con un nutraceutico de uva específico, conteniendo 8 mg RES, mejoró significativamente el perfil inflamatorio y fibrinolítico de pacientes en PP de ECV. En cuanto al estatus inflamatorio, el hallazgo principal fue la disminución en los niveles de hsCRP en un 26% tras 1 año de intervención, lo cual se correlacionó bien con la disminución de TNF- $\alpha$  y PAI-1. El consumo de una cápsula al día ya produjo efectos significativos en algunos marcadores pero fue con dos cápsulas/día donde mejor se observaron dichos efectos. Sin embargo, puesto que los pacientes ya llevaban 6 meses consumiendo una cápsula/día, no podemos asegurar que el mayor efecto observado en los 6 meses finales se debiera exclusivamente a la dosis, sino que los efectos positivos parecieron derivarse tanto del tratamiento a largo plazo como de la duplicación de la dosis de GE-RES. En el caso de PAI-1, parece que el aumento de dosis fue necesario para alcanzar el nivel significativo de disminución encontrado al final del estudio.

En este ensayo, los pacientes estaban siendo medicados según las guías aceptadas para la PP de ECV (Banegas, *et al.*, 2011, Reiner, *et al.*, 2011). Sin embargo, la IL-6 e IL-10 evolucionaron negativamente en el tiempo en el grupo placebo, a pesar de dicha medicación. Esto refuerza la necesidad de buscar estrategias complementarias a las actuales para el control óptimo de pacientes en PP de ECV (Libby & Crea, 2010, Banegas, *et al.*, 2011). Además de implementar en los pacientes estilos de vida saludables (cese de tabaquismo, ejercicio diario moderado, dieta rica en frutas y hortalizas, etc.), y del control de los lípidos circulantes, actualmente está ganando importancia la búsqueda de marcadores inflamatorios relevantes para complementar las guías de prevención. A pesar de alguna controversia, la hsCRP se está proponiendo

como un importante biomarcador de inflamación en la aplicación y estratificación clínica del riesgo de desarrollar ECV (Weil, *et al.*, 2011, Braunwald, 2012). Se ha descrito que este marcador, en el contexto de otros factores de riesgo, predice el riesgo futuro de cardiopatía coronaria en sujetos asintomáticos de alto riesgo (Koenig, *et al.*, 1999, Ridker, *et al.*, 2001, Mora, *et al.*, 2009). En el ensayo JUPITER, el tratamiento con rosuvastatina (20 mg/día) redujo los niveles de hsCRP en un 37% en sujetos normolipidémicos, pero con hsCRP elevada, lo que se correlacionó significativamente con una reducción en la incidencia de eventos cardiovasculares graves (Ridker, *et al.*, 2008). Por lo tanto, los enfoques complementarios dirigidos a la disminución de los niveles de hsCRP en PP son de gran relevancia (Libby y Crea, 2010). Teniendo esto en cuenta, en el presente ensayo, el porcentaje de pacientes en el grupo GE-RES con valores de hsCRP >3 mg/L se redujo de un 48% en la inclusión a un 30% al término del ensayo, con una bajada media del 26%, una disminución que podría ser clínicamente relevante (Pearson, *et al.*, 2003).

Las estatinas son los fármacos de primera elección en la PP para la corrección de la dislipemia, pero también ejercen actividades antiinflamatorias y antioxidantes, y mejoran la función endotelial (Jain & Ridker, 2005). Estos efectos pleiotrópicos de las estatinas coinciden de alguna manera con los descritos para el RES. Además de actividades quimiopreventivas del cáncer, el RES también ha proporcionado protección contra las ECV (Vang, *et al.*, 2011) a través de una serie de mecanismos, incluyendo el aumento de síntesis de NO y la activación de sirtuínas, así como la disminución de endotelina-1, moléculas de adhesión y citoquinas proinflamatorias, entre muchos otros (Weil, *et al.*, 2011). Sin embargo, estos efectos se han descrito tanto *in vitro* como en modelos animales usando altas concentraciones, lo que implica dudas relativas a la

## **Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

seguridad para las personas tras su consumo a largo plazo, especialmente en individuos polimedicados (Vang, *et al.*, 2011).

En el presente ensayo, la disminución de hsCRP en el grupo GE-RES se correlacionó con una disminución en los valores tanto de TNF- $\alpha$  como de PAI-1, que también son importantes marcadores de la aparición de eventos cardiovasculares (Cesari, *et al.*, 2003, Gorog, 2010). Esto es consistente con la regulación conocida de la hsCRP por una serie de señales inflamatorias como el TNF- $\alpha$ , que altera la homeostasis del endotelio vascular, deteriora el estado fibrinolítico, aumentando los niveles de PAI-1, e induce la desestabilización de la placa (Bisoendial, *et al.*, 2010). De acuerdo con otros estudios donde la disminución de hsCRP se asoció a la inhibición de TNF- $\alpha$ , pero sólo marginalmente con IL-6, en el presente estudio, los valores de IL-6 se mantuvieron sin cambios (Bernstein, *et al.*, 2006). Además, en un estudio transversal reciente con 6.184 participantes, 655 bajo tratamiento con estatinas, se encontró una asociación significativa entre individuos tomando estatinas y valores más bajos de hsCRP, independientemente de los niveles de IL-6 (Lyngdoh, *et al.*, 2011).

Hay muy pocos ensayos en personas sobre protección cardiovascular y RES, todos con un seguimiento de corto plazo. En uno de ellos, Fujitaka y colaboradores (Fujitaka, *et al.*, 2011) describieron una mejora en el la dilatación mediada por flujo (una forma no invasiva de evaluar la función endotelial) del 4,4% al 10% en 34 sujetos con síndrome metabólico y medicados, que consumieron 100 mg de RES al día, durante 3 meses. Sin embargo, la seguridad del ensayo no se evaluó a pesar de la alta concentración usada de extracto de RES de origen no alimentario. Además, no se hizo referencia a un posible efecto sobre la hsCRP, lo que pudo deberse a la corta duración del tratamiento. Otra explicación es que los efectos beneficiosos se puedan ver ampliados cuando el RES está presente junto con el resto de la fracción fenólica de la

uva, como en el caso de nuestro ensayo. En otro estudio, Brasnyó y colaboradores (Brasnyó, *et al.*, 2011) describieron la mejora de la sensibilidad a la insulina en diabéticos, debido a la activación de la ruta PI3K/Akt, tras el consumo diario de 10 mg de RES, durante 4 semanas. La activación de esta ruta por las estatinas ha sido explorada previamente y se ha visto su correlación con una disminución en los niveles de PAI-1 (Kruithof, 2008). Además, se ha descrito que un aumento en los niveles de adiponectina está directamente asociado a la activación de esta ruta (Maruyama, *et al.*, 2011). Ambos efectos (aumento de adiponectina y disminución de PAI-1) también se observaron en el presente estudio. Por lo tanto, este suplemento de uva enriquecido en RES parece ejercer un efecto similar al de las estatinas, más allá de la medicación estándar optimizada. En este sentido, no se puede descartar un efecto sinérgico entre las estatinas y este nutraceutico. De hecho, tal y como se ha comentado previamente, la combinación de pravastatina y RES se ha descrito más eficaz contra el infarto de miocardio en ratas hipercolesterolémicas que la estatina por sí sola (Penumathsa, *et al.*, 2007).

#### **4.3.4. Seguridad y detección de metabolitos**

##### **4.3.4.1. Evaluación de la seguridad de los productos del estudio**

Con el fin de evaluar la seguridad de los productos objeto de estudio, se midieron una serie de variables involucradas en las funciones hepática, tiroidea, renal, y hematológica, y se usaron cuestionarios para que los pacientes anotaran cualquier síntoma que pudiera correlacionarse con efectos adversos (**Capítulo 3; Figura 3.4**). Las determinaciones realizadas para estas variables, antes del inicio de la toma de los productos del estudio, no presentaron diferencias significativas entre los tres grupos

**Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

(**Tabla 4.6**). Se observaron cambios estadísticamente significativos en algunas variables relacionadas con la función hepática, tiroidea y renal, pero siempre dentro del intervalo de valores considerados normales y/o careciendo de relevancia clínica (**Tabla 4.7**).

**Tabla 4.6.** Variables serobioquímicas y hematológicas, seleccionadas para la evaluación de la seguridad de los productos del estudio, determinadas en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular, en el inicio del ensayo (n=75).

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Hcys (μmol/L)	13±12	11±11	16±16	$P_{(0)}=0,14$	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,50$
GGT (U/L)	28±13	30±22	30±26	$P_{(0)}=0,35$	$P_{(0)}=0,83$	$P_{(0)}=0,29$
AST (U/L)	25±5	27±11	27±9	$P_{(0)}=0,49$	$P_{(0)}=0,17$	$P_{(0)}=0,52$
ALT (U/L)	28±10	34±20	29±15	$P_{(0)}=0,36$	$P_{(0)}=0,79$	$P_{(0)}=0,54$
LDH (U/L)	333±51	325±43	336±33	$P_{(0)}=0,84$	$P_{(0)}=0,99$	$P_{(0)}=0,85$
FA (U/L)	197±58	168±43	205±85	$P_{(0)}=0,13$	$P_{(0)}=0,98$	$P_{(0)}=0,11$
CPK (U/L)	129±69	119±44	129±83	$P_{(0)}=0,80$	$P_{(0)}=0,61$	$P_{(0)}=0,81$
Glucosa (mg/dL)	121±33	119±33	115±26	$P_{(0)}=0,74$	$P_{(0)}=0,43$	$P_{(0)}=0,64$
HbA1c (%)	6,5±1,2	6,6±1,2	6,2±0,6	$P_{(0)}=0,74$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,23$
TSH (mU/L)	2,1±1,2	2,2±1,4	2,2±1,0	$P_{(0)}=0,64$	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=0,68$
T4 (ng/dL)	1,1±0,2	1,2±0,2	1,1±0,2	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,68$	$P_{(0)}=0,24$
Bilirrubina (mg/dL)	0,6±0,1	0,6±0,2	0,5±0,2	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,32$
Creatinina (mg/dL)	0,8±0,2	0,7±0,1	0,7±0,1	$P_{(0)}=0,57$	$P_{(0)}=0,28$	$P_{(0)}=0,55$
Urato (mg/dL)	5,3±1,5	5,8±1,2	5,7±1,3	$P_{(0)}=0,22$	$P_{(0)}=0,06$	$P_{(0)}=0,47$
Albumina (g/L)	44±2	45±3	44±4	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,64$	$P_{(0)}=0,89$
VSG (mm/1 <sup>a</sup> h)	15±11	15±20	15±7	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,82$	$P_{(0)}=0,67$
Hemoglobina (g/dL)	14±1	14±1	14±1	$P_{(0)}=0,12$	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,37$
Hematocrito (L/L)	42±3	40±4	41±4	$P_{(0)}=0,19$	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,36$
VCM (fL)	90±4	90±5	91±3	$P_{(0)}=0,50$	$P_{(0)}=0,12$	$P_{(0)}=0,37$
Leucocitos (x10 <sup>9</sup> /L)	7,3±2,0	7,6±2,6	7,3±1,7	$P_{(0)}=0,57$	$P_{(0)}=0,98$	$P_{(0)}=0,60$
Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L)	4,2±1,6	4,4±2,2	4,0±1,1	$P_{(0)}=0,72$	$P_{(0)}=0,69$	$P_{(0)}=0,46$
Linfocitos (x10 <sup>9</sup> /L)	2,3±0,6	2,4±0,6	2,4±0,8	$P_{(0)}=0,46$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,96$
Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> /L)	0,19±0,18	0,20±0,10	0,25±0,19	$P_{(0)}=0,73$	$P_{(0)}=0,19$	$P_{(0)}=0,34$
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)	23±5	23±7	23±7	$P_{(0)}=0,83$	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=0,80$

Los valores se presentan como media±DE.  $P_{(0)}$ ,  $P$  en la inclusión (obtenido con ANOVA). ALT, alanina transaminasa; AST, aspartato transaminasa; CPK, creatina fosfoquinasa; FA, fosfatasa alcalina; GE, extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; GGT,  $\gamma$ -glutamyl transferasa; HbA1c; hemoglobina glicada; Hcys, homocisteína; IMC, índice de masa corporal; LDH, lactato deshidrogenasa; T4, tiroxina; TSH; tirotropina; VCM, volumen corpuscular medio; VSG, velocidad de eritrosedimentación.

**Tabla 4.7.** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea, hepática, hematológica y otras en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Valores determinados				Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
	Meses	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	6	30±4	31±5	30±5	$P_{(0-6)}=0,65$	$P_{(0-6)}=0,78$	$P_{(0-6)}=0,54$	$P_{(6)}=0,98$	$P_{(6)}=0,24$	$P_{(6)}=0,15$
	12	29±4	31±5	31±5	$P_{(6-12)}=0,62$ $P_{(0-12)}=0,75$	$P_{(6-12)}=0,35$ $P_{(0-12)}=0,79$	$P_{(6-12)}=0,28$ $P_{(0-12)}=0,68$	$P_{(12)}=0,93$	$P_{(12)}=0,35$	$P_{(12)}=0,30$
PSS (mm Hg)	6	129±16	127±24	133±22	$P_{(0-6)}=0,64$	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,52$	$P_{(6)}=0,58$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,49$
	12	134±16	137±15	137±15	$P_{(6-12)}=0,41$ $P_{(0-12)}=0,73$	$P_{(6-12)}=0,11$ $P_{(0-12)}=0,18$	$P_{(6-12)}=0,44$ $P_{(0-12)}=0,27$	$P_{(12)}=0,74$	$P_{(12)}=0,69$	$P_{(12)}=0,46$
PSD (mm Hg)	6	76±8	76±15	76±11	$P_{(0-6)}=0,74$	$P_{(0-6)}=0,41$	$P_{(0-6)}=0,82$	$P_{(6)}=0,81$	$P_{(6)}=0,87$	$P_{(6)}=0,84$
	12	79±9	78±12	81±10	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,31$	$P_{(6-12)}=0,48$ $P_{(0-12)}=0,83$	$P_{(6-12)}=0,08$ $P_{(0-12)}=0,06$	$P_{(12)}=0,75$	$P_{(12)}=0,70$	$P_{(12)}=0,49$
FC (latidos/min)	6	66±10	67±7	67±11	$P_{(0-6)}=0,44$	$P_{(0-6)}=0,81$	$P_{(0-6)}=0,56$	$P_{(6)}=0,45$	$P_{(6)}=0,58$	$P_{(6)}=0,66$
	12	66±10	67±8	69±10	$P_{(6-12)}=0,92$ $P_{(0-12)}=0,38$	$P_{(6-12)}=0,90$ $P_{(0-12)}=0,88$	$P_{(6-12)}=0,27$ $P_{(0-12)}=0,08$	$P_{(12)}=0,75$	$P_{(12)}=0,27$	$P_{(12)}=0,43$
GGT (U/L) (1-24)	6	32±16	27±15	39±35	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(0-6)}=0,10$	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,12$	$P_{(6)}=0,22$	$P_{(6)}=0,01$
	12	32±16	31±23	31±23	$P_{(6-12)}=0,83$ $P_{(0-12)}=0,02\%$	$P_{(6-12)}=0,12$ $P_{(0-12)}=0,14$	$P_{(6-12)}=0,23$ $P_{(0-12)}=0,27$	$P_{(12)}=0,78$	$P_{(12)}=0,53$	$P_{(12)}=0,39$
AST (U/L) (8-30)	6	26±10	23±6	25±6	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,01\downarrow15\%$	$P_{(0-6)}=0,01\downarrow5\%$	$P_{(6)}=0,12$	$P_{(6)}=0,63$	$P_{(6)}=0,34$
	12	24±6	22±4	28±8	$P_{(6-12)}=0,42$ $P_{(0-12)}=0,68$	$P_{(6-12)}=0,35$ $P_{(0-12)}=0,02\downarrow20\%$	$P_{(6-12)}=0,01\%$ $P_{(0-12)}=0,52$	$P_{(12)}=0,41$	$P_{(12)}=0,04$	$P_{(12)}=0,01$
ALT (U/L) (7-35)	6	30±14	28±13	27±11	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,03\downarrow18\%$	$P_{(0-6)}=0,01\downarrow6\%$	$P_{(6)}=0,13$	$P_{(6)}=0,25$	$P_{(6)}=0,57$
	12	27±10	24±11	28±11	$P_{(6-12)}=0,22$ $P_{(0-12)}=0,94$	$P_{(6-12)}=0,19$ $P_{(0-12)}=0,14$	$P_{(6-12)}=0,72$ $P_{(0-12)}=0,58$	$P_{(12)}=0,35$	$P_{(12)}=0,31$	$P_{(12)}=0,07$
LDH (U/L) (208-378)	6	324±48	329±34	313±36	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(0-6)}=0,21$	$P_{(0-6)}=0,03\downarrow7\%$	$P_{(6)}=0,71$	$P_{(6)}=0,52$	$P_{(6)}=0,35$
	12	330±43	323±46	343±64	$P_{(6-12)}=0,19$ $P_{(0-12)}=0,89$	$P_{(6-12)}=0,17$ $P_{(0-12)}=0,72$	$P_{(6-12)}=0,02\uparrow9\%$ $P_{(0-12)}=0,39$	$P_{(12)}=0,50$	$P_{(12)}=0,81$	$P_{(12)}=0,39$
FA (U/L) (70-290)	6	173±45	142±33	171±58	$P_{(0-6)}=0,00\downarrow12\%$	$P_{(0-6)}=0,00\downarrow15\%$	$P_{(0-6)}=0,00\downarrow16\%$	$P_{(6)}=0,02$	$P_{(6)}=0,89$	$P_{(6)}=0,03$
	12	194±67	160±41	192±70	$P_{(6-12)}=0,01\uparrow11\%$ $P_{(0-12)}=0,15$	$P_{(6-12)}=0,01\uparrow11\%$ $P_{(0-12)}=0,09$	$P_{(6-12)}=0,01\uparrow11\%$ $P_{(0-12)}=0,35$	$P_{(12)}=0,21$	$P_{(12)}=0,87$	$P_{(12)}=0,13$
CPK (U/L) (26-140)	6	128±67	115±28	103±31	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,21$	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(6)}=0,54$	$P_{(6)}=0,21$	$P_{(6)}=0,46$
	12	133±80	119±37	103±41	$P_{(6-12)}=0,11$ $P_{(0-12)}=0,88$	$P_{(6-12)}=0,16$ $P_{(0-12)}=0,80$	$P_{(6-12)}=0,31$ $P_{(0-12)}=0,41$	$P_{(12)}=0,60$	$P_{(12)}=0,24$	$P_{(12)}=0,54$

***Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular***

161

Glucosa (mg/dL) (74-100)	6	119±34	128±50	113±20	$P_{(0-6)}=0,23$	$P_{(0-6)}=0,05$	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(6)}=0,36$	$P_{(6)}=0,16$	$P_{(6)}=0,08$
	12	124±38	113±23	110±22	$P_{(6-12)}=0,15$ $P_{(0-12)}=0,60$	$P_{(6-12)}=0,02$ ↓12% $P_{(0-12)}=0,14$	$P_{(6-12)}=0,14$ $P_{(0-12)}=0,58$	$P_{(12)}=0,59$	$P_{(12)}=0,14$	$P_{(12)}=0,05$
HbA1c (%) (6,0-7,0)	6	6,4±1,0	6,8±1,2	6,2±0,6	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(0-6)}=0,94$	$P_{(6)}=0,47$	$P_{(6)}=0,02$	$P_{(6)}=0,11$
	12	6,4±1,1	6,5±0,9	6,2±0,6	$P_{(6-12)}=0,60$ $P_{(0-12)}=0,68$	$P_{(6-12)}=0,01$ ↓5% $P_{(0-12)}=0,33$	$P_{(6-12)}=0,71$ $P_{(0-12)}=0,79$	$P_{(12)}=0,03$	$P_{(12)}=0,02$	$P_{(12)}=0,86$
TSH (mU/L) (0,35-5,5)	6	2,0±1,2	2,2±1,4	1,9±0,9	$P_{(0-6)}=0,15$	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,33$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,75$	$P_{(6)}=0,52$
	12	2,0±1,1	2,1±1,0	2,4±1,0	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,92$	$P_{(6-12)}=0,21$ $P_{(0-12)}=0,70$	$P_{(6-12)}=0,07$ $P_{(0-12)}=0,15$	$P_{(12)}=0,50$	$P_{(12)}=0,22$	$P_{(12)}=0,70$
T4 (ng/dL) (0,9-1,77)	6	1,1±0,1	1,1±0,2	1,1±0,2	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(0-6)}=0,15$	$P_{(6)}=0,63$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,79$
	12	1,2±0,1	1,1±0,1	1,2±0,2	$P_{(6-12)}=0,21$ $P_{(0-12)}=0,00$ ↑12%	$P_{(6-12)}=0,86$ $P_{(0-12)}=0,54$	$P_{(6-12)}=0,71$ $P_{(0-12)}=0,46$	$P_{(12)}=0,21$	$P_{(12)}=0,87$	$P_{(12)}=0,18$
Bilirrubina (mg/dL) (0,3-1,24)	6	0,7±0,2	0,6±0,2	0,6±0,2	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,47$	$P_{(6)}=0,61$
	12	0,7±0,2	0,6±0,2	0,6±0,2	$P_{(6-12)}=0,91$ $P_{(0-12)}=0,76$	$P_{(6-12)}=0,93$ $P_{(0-12)}=0,89$	$P_{(6-12)}=0,32$ $P_{(0-12)}=0,63$	$P_{(12)}=0,51$	$P_{(12)}=0,60$	$P_{(12)}=0,86$
Creatinina (mg/dL) (0,5-1,1)	6	0,8±0,2	0,8±0,2	0,7±0,2	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(0-6)}=0,33$	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(6)}=0,52$	$P_{(6)}=0,23$	$P_{(6)}=0,18$
	12	0,8±0,2	0,7±0,1	0,7±0,1	$P_{(6-12)}=0,62$ $P_{(0-12)}=0,04$ ↑6%	$P_{(6-12)}=0,51$ $P_{(0-12)}=0,78$	$P_{(6-12)}=0,59$ $P_{(0-12)}=0,73$	$P_{(12)}=0,84$	$P_{(12)}=0,69$	$P_{(12)}=0,55$
Urato (mg/dL) (2,6-6,1)	6	5,3±1,9	6,0±1,6	5,7±1,6	$P_{(0-6)}=0,32$	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(6)}=0,20$	$P_{(6)}=0,07$	$P_{(6)}=0,48$
	12	5,6±1,6	6,0±1,4	5,9±1,3	$P_{(6-12)}=0,10$ $P_{(0-12)}=0,56$	$P_{(6-12)}=0,66$ $P_{(0-12)}=0,56$	$P_{(6-12)}=0,09$ $P_{(0-12)}=0,14$	$P_{(12)}=0,22$	$P_{(12)}=0,03$	$P_{(12)}=0,34$
Albumina (g/L) (34-48)	6	44±3	43±3	43±3	$P_{(0-6)}=0,27$	$P_{(0-6)}=0,00$ ↓4%	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(6)}=0,07$	$P_{(6)}=0,22$	$P_{(6)}=0,37$
	12	46±3	45±4	45±3	$P_{(6-12)}=0,31$ $P_{(0-12)}=0,10$	$P_{(6-12)}=0,39$ $P_{(0-12)}=0,19$	$P_{(6-12)}=0,06$ $P_{(0-12)}=0,12$	$P_{(12)}=0,17$	$P_{(12)}=0,07$	$P_{(12)}=0,09$
Hcys (μmol/L)	6	12±9	12±10	15±14	$P_{(0-6)}=0,94$	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(0-6)}=0,93$	$P_{(6)}=0,20$	$P_{(6)}=0,90$	$P_{(6)}=0,22$
	12	12±9	13±11	13±13	$P_{(6-12)}=0,20$ $P_{(0-12)}=0,16$	$P_{(6-12)}=0,69$ $P_{(0-12)}=0,27$	$P_{(6-12)}=0,69$ $P_{(0-12)}=0,27$	$P_{(12)}=0,87$	$P_{(12)}=0,69$	$P_{(12)}=0,56$
VSG (mm/1 <sup>ah</sup> ) (1-30)	6	14±12	14±19	14±15	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(0-6)}=0,23$	$P_{(0-6)}=0,52$	$P_{(6)}=0,91$	$P_{(6)}=0,99$	$P_{(6)}=0,92$
	12	19±13	19±22	16±11	$P_{(6-12)}=0,03$ ↑12% $P_{(0-12)}=0,21$	$P_{(6-12)}=0,08$ $P_{(0-12)}=0,51$	$P_{(6-12)}=0,48$ $P_{(0-12)}=0,93$	$P_{(12)}=0,92$	$P_{(12)}=0,46$	$P_{(12)}=0,53$
Hematocrito (dL/L) (37,5-47,0)	6	41±3	40±5	39±5	$P_{(0-6)}=0,15$	$P_{(0-6)}=0,21$	$P_{(0-6)}=0,00$ ↓5%	$P_{(6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,15$	$P_{(6)}=0,74$
	12	42±3	41±5	41±4	$P_{(6-12)}=0,32$ $P_{(0-12)}=0,89$	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,74$	$P_{(6-12)}=0,01$ ↑4% $P_{(0-12)}=0,47$	$P_{(12)}=0,37$	$P_{(12)}=0,55$	$P_{(12)}=0,78$
Leucocitos (x10 <sup>9</sup> /L) (4,4-10,6)	6	6,9±1,7	7,6±2,5	7,3±2,1	$P_{(0-6)}=0,12$	$P_{(0-6)}=0,79$	$P_{(0-6)}=0,95$	$P_{(6)}=0,27$	$P_{(6)}=0,48$	$P_{(6)}=0,70$
	12	7,2±1,8	7,4±1,8	7,1±1,9	$P_{(6-12)}=0,19$ $P_{(0-12)}=0,8$	$P_{(6-12)}=0,59$ $P_{(0-12)}=0,38$	$P_{(6-12)}=0,38$ $P_{(0-12)}=0,39$	$P_{(12)}=0,71$	$P_{(12)}=0,79$	$P_{(12)}=0,54$

**Tabla 4.7 (cont.).** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea, hepática, hematológica y otras en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Linfocitos (x10 <sup>9</sup> /L) (0,95-4,8)	6	2,3±0,8	2,3±0,6	2,3±0,8	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,92	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,33	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,07	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,76	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,99	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,77
	12	2,2±0,8	2,4±0,6	2,2±0,7	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,80 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,86	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,66 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,71	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,78 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,06	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,52	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,98	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,52
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L) (140-400)	6	22±5	22±7	21±7	<b><i>P</i><sub>(0-6)</sub>=0,02 ↓8%</b>	<b><i>P</i><sub>(0-6)</sub>=0,03 ↓5%</b>	<b><i>P</i><sub>(0-6)</sub>=0,00 ↓9%</b>	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,95	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,88	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,83
	12	22±5	23±7	22±6	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,76 <b><i>P</i><sub>(0-12)</sub>=0,04 ↓7%</b>	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,16 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,54	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,44 <b><i>P</i><sub>(0-12)</sub>=0,01 ↓7%</b>	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,62	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,98	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,65
Hemoglobina (g/dL) (12-15,6)	6	14±1	14±2	14±2	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,77	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,95	<b><i>P</i><sub>(0-6)</sub>=0,01 ↓3%</b>	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,18	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,15	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,90
	12	14 ±1	14±2	14±1	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,35 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,56	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,21 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,31	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,05 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,81	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,28	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,38	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,86
VCM (fL) (81-98)	6	91±3	91±4	92±3	<b><i>P</i><sub>(0-6)</sub>=0,00 ↑1%</b>	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,06	<b><i>P</i><sub>(0-6)</sub>=0,01 ↑1%</b>	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,94	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,22	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,26
	12	92±3	92±4	93±4	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,27 <b><i>P</i><sub>(0-12)</sub>=0,00 ↑2%</b>	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,46 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,07	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,73 <b><i>P</i><sub>(0-12)</sub>=0,00 ↑2%</b>	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,92	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,09	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,08
Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L) (1,85-7,90)	6	3,8±1,2	4,4±2,2	4,2±1,7	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,11	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,97	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,50	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,26	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,48	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,69
	12	4,2±1,4	4,2±1,4	4,0±1,2	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,19 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,74	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,37 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,44	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,54 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,95	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,90	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,75	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,67
Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> /L) (0,0-0,7)	6	0,15±0,1	0,20±0,1	0,25±0,2	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,22	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,78	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,88	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,28	<b><i>P</i><sub>(6)</sub>=0,02</b>	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,22
	12	0,14±0,1	0,21±0,1	0,20±0,2	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,61 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,07	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,60 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,87	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,10 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,09	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,07	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,10	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,92

Los valores se expresan como media±DE. El rango de valores normales, cuando establecido en el hospital, se muestra debajo de cada variable. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 de 6 hasta 12 meses. ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; CPK, creatina fosfoquinasa; FA, fosfatasa alcalina; FC, frecuencia cardiaca; GE, extracto de uva convencional; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; GGT,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa; HbA1c, hemoglobina glicada; Hcys, homocisteína; IMC, índice de masa corporal; LDH, lactato deshidrogenasa; PSS, presión sanguínea sistólica; PSD, presión sanguínea diastólica; TSH, tirotropina; T4, tiroxina; VCM, volumen corpuscular medio; VSG, velocidad de eritrosedimentación. Las flechas señalan el % de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Las diferencias significativas (*P*<0,05) están en negrita.



En el mismo sentido, los pocos cambios estadísticamente significativos registrados en las varias variables hematológicas evaluadas también carecieron de relevancia clínica (**Figura 4.7**). Los pacientes no experimentaron efectos adversos tras el consumo de los productos del estudio, tales como reacciones alérgicas, dispepsia, intolerancia, etc.

#### **4.3.4.2. Metabolitos derivados de compuestos fenólicos**

Usando equipos UPLC-QqQ y HPLC-MS/MS (**Capítulo 3**), no se detectaron metabolitos derivados de compuestos fenólicos de la uva (incluyendo RES) ni en el plasma, ni en las partículas de LDL de los pacientes (GE y GE-RES).

#### **4.3.4.3. Discusión**

La seguridad en un ensayo clínico, incluso en ensayos de intervención dietética, debe ser vigilada. Se saben algunos efectos adversos derivados de la combinación de estatinas con otros fármacos como fibratos (fenofibrato, bezafibrato o ciprofibrato), ácido nicotínico (actualmente en debate) o gemfibrozilo (Reiner, *et al.*, 2011). Estas interacciones negativas pueden ser debidas a la interferencia con la vía metabólica de las estatinas, las cuales sufren principalmente un importante metabolismo hepático donde las isoenzimas del citocromo P450 del hígado e intestino juegan un papel crucial. En este contexto, es interesante encontrar tratamientos coadyuvantes a la terapia estándar con estatinas pero que carezcan de interacciones adversas. En el presente estudio, no se observaron efectos adversos en los pacientes, algo que fue apoyado por la normalidad encontrada en importantes marcadores de la función hepática, renal y tiroidea (**Tabla 4.7**).

El no detectar metabolitos derivados de compuestos fenólicos en las muestras de plasma y LDL de los pacientes refleja el enfoque de prevención dietética usado en el presente ensayo. Estos resultados no son sorprendentes teniendo en cuenta la baja dosis de RES consumida y el rápido aclarado de esta molécula. En un estudio reciente, se encontraron metabolitos de RES, por debajo del límite de cuantificación, en las partículas LDL procedentes de cerdos tras la administración oral de una dosis equivalente en humano (HED), para persona de 70 kg, de 500 mg (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011). Además, tampoco se detectaron metabolitos circulantes del RES en otros estudios en roedores a pesar de que se observaron efectos sistémicos tras la administración de una HED de 10 mg por vía oral (Larrosa, *et al.*, 2009). Se han encontrado concentraciones máximas en el orden nanomolar hasta el bajo micromolar tras la ingesta de 0,5 a 5 g de RES en ensayos farmacocinéticos en plasma humano (Boocock, *et al.*, 2007b). Todo esto se puede encuadrar dentro de la llamada "Paradoja del resveratrol" (baja biodisponibilidad del polifenol frente a sus efectos pleiotrópicos), la cual está todavía bajo investigación y debate (Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011).

#### **4.4. Limitaciones y conclusión**

Este estudio presenta algunas limitaciones. Entre éstas, no podemos olvidar las concernientes a los recursos humanos, económicos, y otros, inherentes a la puesta en marcha y ejecución de este ensayo clínico unicéntrico, que llevó más de 2 años, y que imposibilitó la realización de un seguimiento más largo para evaluar la posible aparición de eventos futuros de ECV en estos pacientes. Por otro lado, la división de los voluntarios en tres grupos, que se concibió para identificar la importancia del RES en comparación con el resto de polifenoles presentes en la uva (grupo GE vs GE-RES),

## **Ensayo clínico en pacientes de prevención primaria de riesgo cardiovascular**

implicó un tamaño muestral por grupo más reducido. En este ensayo hemos hecho especial hincapié en los efectos observados en marcadores de riesgo más que en los posibles mecanismos moleculares subyacentes.

En conclusión, la ingesta de una cápsula por día de extracto de uva enriquecido en dosis dietéticas de RES contribuyó significativamente, sin interacciones o efectos adversos, a reducir los niveles de marcadores importantes de riesgo cardiovascular, relacionados con el perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico, en pacientes de PP tratados con medicación optimizada de acuerdo a las guías actuales de prevención. Somos conscientes de que hacen falta ensayos clínicos de mayor tamaño muestral y tiempo de seguimiento para comprobar el verdadero impacto clínico de los efectos beneficiosos que hemos observado en estos pacientes.



# CAPÍTULO 5

*Ensayo clínico en pacientes de  
prevención secundaria de riesgo  
cardiovascular*

---

**Tomé-Carneiro, J.;** González, M.; Larrosa, M.; Yáñez-Gascón, M.J.; García-Almagro, F.J.; Ruiz-Ros, J.A.; Tomás-Barberán, F.A.; García-Conesa, M.T.; Espín, J.C. (2013). Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: A randomised one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 27:37-48.



## **CAPÍTULO 5**

---

### **5. Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular**

#### **5.1. Resumen**

Se ha visto en el capítulo anterior que el extracto de uva rico en resveratrol (GE-RES) mejora el perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico en pacientes con alto riesgo cardiovascular y tratados de acuerdo a las guías actuales para prevención primaria (PP) de riesgo cardiovascular. En este Capítulo investigamos los efectos de este suplemento en pacientes estables con enfermedad arterial coronaria (EAC) tratados de acuerdo con las guías actuales para la prevención secundaria (PS) de las enfermedades cardiovasculares (ECV).

En este ensayo seguimos el mismo diseño que el descrito en el capítulo anterior, es decir, un ensayo clínico aleatorio, controlado con placebo, triple ciego, con 3 brazos paralelos y un año de seguimiento en 75 pacientes con EAC estable que también consumieron diariamente 1 cápsula/día de placebo, GE o GE-RES durante los primeros 6 meses y 2 cápsulas/día en los 6 meses finales. Se analizaron los cambios en biomarcadores inflamatorios y fibrinolíticos circulantes. Después de un año, a diferencia de los grupos placebo y GE, el grupo GE-RES presentó un aumento en la adiponectina sérica ( $\approx 9\%$ ,  $P=0,01$ ) y una disminución en el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 (PAI-1) ( $\approx 19\%$ ,  $P=0,05$ ). No se detectaron efectos adversos ni interacciones con fármacos debidos a los productos objeto del estudio.

Nuestros resultados sugieren que el consumo diario y a largo plazo de este nutraceutico de uva aumenta los niveles de adiponectina en suero y previene el aumento de PAI-1, lo cual puede contribuir a reducir el riesgo cardiovascular en pacientes con EAC estable tratados según las guías actuales para la PS.

## **5.2. Introducción**

Como se ha indicado anteriormente, las ECV son la causa principal de muerte prematura en los países desarrollados y los pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) establecida corren un riesgo muy alto de eventos cardiovasculares recurrentes (WHO, 2007).

Las guías actuales en PS de ECV están relacionadas no sólo con áreas clínicas de intervención, sino también con la aplicación de estilos de vida saludables, incluyendo una dieta saludable (Libby & Crea, 2010). Por tanto, resulta fundamental seguir investigando estrategias adicionales que logren aportar un beneficio complementario a la medicación optimizada en pacientes con enfermedad coronaria establecida y con alto riesgo de recurrencia en la aparición de eventos cardiovasculares. En este contexto, ya se ha comentado que una posible estrategia puede ser la de recurrir a alimentos funcionales y/o nutraceuticos con el fin de ampliar la ingesta de compuestos bioactivos beneficiosos, incluidos los compuestos fenolicos de origen vegetal, con el objetivo de ayudar en la prevención de estas enfermedades. Sin embargo, a nivel mundial, son escasos los ensayos clínicos a largo plazo y controlados por placebo que buscan evaluar la eficacia y seguridad de este tipo de complementos en pacientes polimedicados, incluidos aquellos con enfermedad ya establecida. Se han comentado anteriormente las expectativas depositadas sobre el RES en virtud de la abundante literatura científica existente, aunque basada fundamentalmente en estudios preclínicos (Pauwels, 2011,



Petrowski, *et al.*, 2011). Sin embargo, las evidencias en seres humanos son particularmente limitadas (Vang, *et al.*, 2011). En el capítulo anterior hemos descrito la eficacia y seguridad de un nutracéutico de uva rico en RES (GE-RES) en pacientes de PP de ECV, sometidos a tratamiento farmacológico optimizado, constatando la mejora del perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico de estos pacientes, sin efectos adversos.

Teniendo en cuenta lo anterior, nuestro objetivo fue investigar los efectos de GE-RES en el perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico de pacientes con EAC y medicados de acuerdo con las guías actuales para la PS de ECV.

### **5.3. Resultados y Discusión**

#### **5.3.1. Características de los pacientes, y cumplimiento del ensayo**

Igual que para el ensayo clínico llevado a cabo en pacientes de PP de riesgo cardiovascular (**Capítulo 4**), para el ensayo realizado en pacientes de PS, se registraron en la inclusión varias características demográficas y clínicas, así como diversas variables bioquímicas y hematológicas de dichos pacientes, los cuales se distribuyeron también aleatoriamente en tres grupos: placebo, GE y GE-RES. No se encontraron diferencias significativas en las características demográficas y medicación recibida por los pacientes entre los tres grupos (**Tabla 4.7**). Los pacientes de todos los grupos consumieron más del 95% de las cápsulas (niveles de cumplimiento >95%).

**Tabla 4.7.** Características en la inclusión de los pacientes (n=75) con EAC estable y tratados de acuerdo con las guías actualmente aceptadas para la prevención secundaria de ECV.

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Edad (años)	58±9	59±10	60±12	$P_{(0)}=0,94$	$P_{(0)}=0,76$	$P_{(0)}=0,92$
Hombres, n (%)	21 (84)	19 (76)	24 (96)	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,66$	$P_{(0)}=0,45$
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,6±4.3	30,8±4.6	29,7±5.1	$P_{(0)}=0,77$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,63$
PSS (mm Hg)	125±18	124±18	126±16	$P_{(0)}=0,85$	$P_{(0)}=0,84$	$P_{(0)}=0,69$
PSD (mm Hg)	72±11	73±10	71±9	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,34$
FC (latidos/min)	61±9	66±9	63±11	$P_{(0)}=0,10$	$P_{(0)}=0,52$	$P_{(0)}=0,32$
FEVI	54±5	55±5	54±4	$P_{(0)}=0,52$	$P_{(0)}=0,80$	$P_{(0)}=0,37$
Diabetes mellitus, n (%)	14 (56)	17 (68)	14 (56)	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,66$	$P_{(0)}=0,41$
Hipertensión, n (%)	17 (68)	16 (64)	19 (76)	$P_{(0)}=0,47$	$P_{(0)}=0,47$	$P_{(0)}=1,00$
Fumadores, n (%)	11 (44)	6 (24)	4 (16)	$P_{(0)}=0,43$	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,68$
Angina estable, n (%)	3 (12)	4 (16)	2 (8)	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=1,00$
IAMSEST, n (%)	7 (28)	10 (40)	10 (40)	$P_{(0)}=0,59$	$P_{(0)}=0,38$	$P_{(0)}=0,74$
IAMCEST, n (%)	15 (60)	11 (44)	13 (52)	$P_{(0)}=0,74$	$P_{(0)}=0,26$	$P_{(0)}=0,41$
Revascularización coronaria, n (%)	19 (76)	21 (84)	21 (84)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,56$
Stent coronario	14 (56)	17 (68)	19 (76)	$P_{(0)}=0,74$	$P_{(0)}=0,74$	$P_{(0)}=1,00$
Bypass coronario	5 (20)	4 (16)	2 (8)	$P_{(0)}=0,64$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,64$
Ictus isquémico, n (%)	1 (4)	1 (4)	2 (8)	$P_{(0)}=0,59$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,59$
Claudicación intermitente, n (%)	4 (16)	5 (20)	5 (20)	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,74$	$P_{(0)}=0,61$
HFECF, n (%)	10 (40)	8 (32)	10 (40)	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,88$	$P_{(0)}=0,64$
Antiagregantes, n (%):	25 (100)	25 (100)	25 (100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
AAS	12 (48)	13 (52)	13 (52)	$P_{(0)}=0,84$	$P_{(0)}=0,84$	$P_{(0)}=1,00$
Clopidogrel	3 (12)	3 (12)	1 (4)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=0,32$
Ambos	10 (40)	9 (36)	11 (44)	$P_{(0)}=0,82$	$P_{(0)}=0,83$	$P_{(0)}=0,66$
Estatinas, n (%):	25 (100)	25 (100)	25 (100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Atorvastatina	16 (64)	16 (64)	17 (68)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,86$
Rosuvastatina	2 (8)	4 (16)	3 (12)	$P_{(0)}=0,41$	$P_{(0)}=0,66$	$P_{(0)}=0,71$
Pravastatina	3 (12)	2 (8)	1 (4)	$P_{(0)}=0,66$	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=0,56$
Fluvastatina	4 (16)	3 (12)	4 (16)	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,71$
Bloqueadores β, n (%)	20 (80)	22 (88)	22 (88)	$P_{(0)}=0,76$	$P_{(0)}=0,76$	$P_{(0)}=1,00$
BRA, n (%)	22 (88)	22 (88)	24 (96)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=0,32$

Los valores se presentan como media±DE en caso de variables cuantitativas o como número de casos (porcentaje) para variables cualitativas. Comparación inter-grupos hecha con ANOVA para variables cuantitativas y Chi cuadrado para variables cualitativas.  $P_{(0)}$ , valor de  $P$  en la inclusión. AAS, ácido acético salicílico; BRA, bloqueadores del receptor de la angiotensina II; FC, frecuencia cardíaca; FEVI, fracción de eyección ventricular izquierda; GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; HFECF, historia familiar de enfermedad coronaria precoz; IAM(C/S)EST, infarto agudo de miocardio (con/sin) elevación del segmento ST; PSD, presión sanguínea diastólica; PSS, presión sanguínea sistólica.

En el análisis estadístico se tuvo en cuenta la posible influencia de las características demográficas o tratamientos farmacológicos de los pacientes, es decir edad, IMC, sexo, hipertensión arterial, tabaquismo, diabetes mellitus, hipercolesterolemia diagnosticada, medicación antiagregante, bloqueadores  $\beta$ , bloqueadores del sistema renina-angiotensina y tipo de estatina. Según los cuestionarios (**Figuras 3.3 y 3.4**), los hábitos alimenticios de esta cohorte de pacientes residente en la región de Murcia fueron similares, y el consumo de vino tinto y productos derivados de la uva fue bastante esporádico durante el tiempo de intervención.

### **5.3.2. Efectos anti-inflamatorios/-fibrinolíticos/-aterogénicos**

#### **5.3.2.1. Perfil inflamatorio y fibrinolítico**

Los valores de las variables incluidas en el perfil inflamatorio y fibrinolítico medidas antes del inicio de la toma de los productos del estudio no presentaron diferencias significativas entre los tres grupos (**Tabla 4.8**). La **Figura 4.5** muestra el impacto global de cada intervención dietética en los biomarcadores circulantes después de 6 y 12 meses en relación a sus valores basales. En el grupo placebo, la IL-10 y adiponectina disminuyeron significativamente en un 7% (IC 95%: -3,7 a -0,2,  $P=0,03$ ) y 13% (IC 95%: -2,4 a 0,3,  $P=0,01$ ), respectivamente, mientras que el PAI-1 aumentó significativamente en un 38% (IC 95%: 3,5 a 10,9,  $P=0,00$ ) después de 12 meses de intervención (**Tabla 4.9, Figura 4.5**).

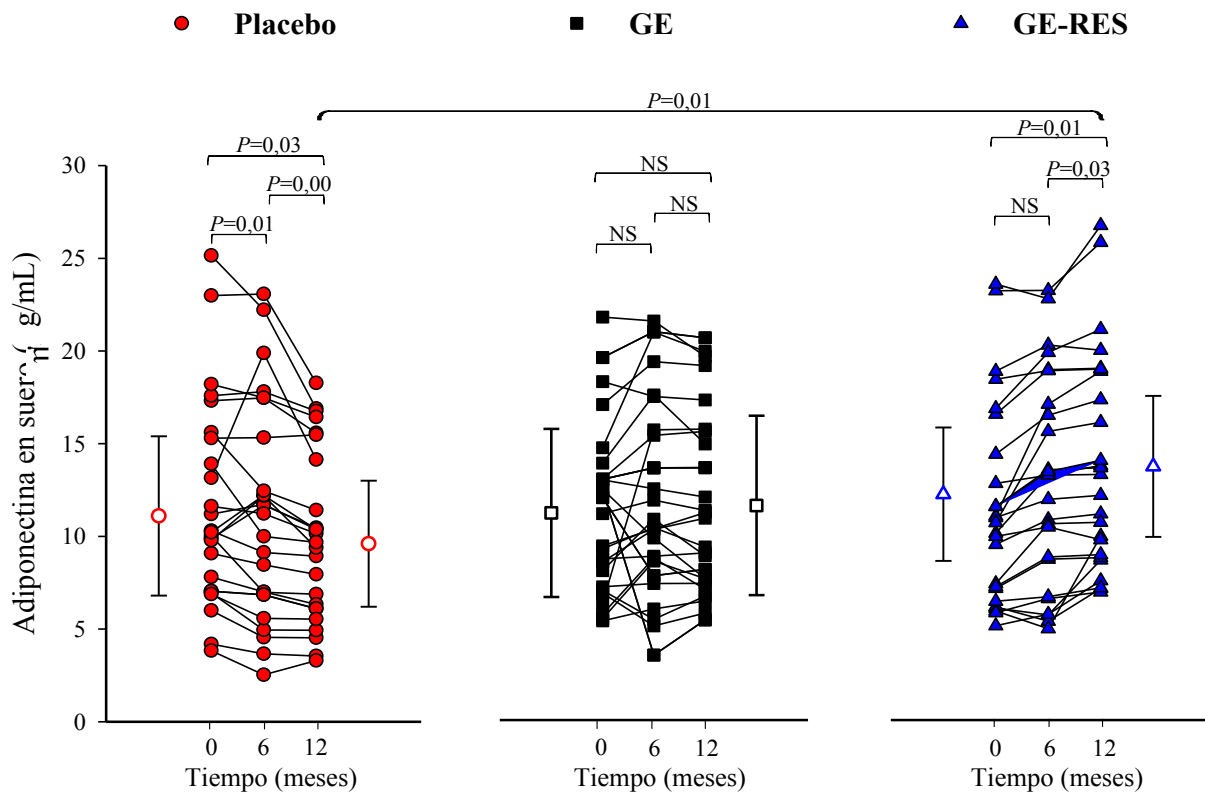
**Tabla 4.8.** Variables relacionadas con inflamación y fibrinólisis determinadas al inicio del estudio en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular (n=75).

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
hsCRP (mg/L)	3,3±2,2	3,5±2,3	3,9±4,1	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,64$	$P_{(0)}=0,12$
Adiponectina (µg/mL)	11,0±5,8	11,2±4,5	12,4±5,6	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,08$	$P_{(0)}=0,79$
TNF-α (pg/mL)	13,7±8,6	14,2±8,7	14,9±8,6	$P_{(0)}=0,79$	$P_{(0)}=0,67$	$P_{(0)}=0,86$
IL-6 (pg/mL)	2,6±1,7	2,2±1,7	2,3±1,8	$P_{(0)}=0,42$	$P_{(0)}=0,31$	$P_{(0)}=0,60$
IL-10 (pg/mL)	19,6±12,4	22,7±16,1	23,1±16,7	$P_{(0)}=0,43$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,88$
IL-6/IL-10	0,16±0,14	0,12±0,12	0,12±0,11	$P_{(0)}=0,38$	$P_{(0)}=0,30$	$P_{(0)}=0,86$
sCD40L (ng/mL)	7,5±3,9	6,5±4,4	6,1±3,6	$P_{(0)}=0,40$	$P_{(0)}=0,10$	$P_{(0)}=0,16$
sVCAM-1 (ng/mL)	1063±253	1033±368	1030±463	$P_{(0)}=0,76$	$P_{(0)}=0,59$	$P_{(0)}=0,82$
Fibrinógeno (g/L)	3,3±0,5	3,6±0,5	3,5±0,5	$P_{(0)}=0,10$	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,59$
PAI-1 (ng/mL)	18,7±14,4	19,8±14,9	17,2±10,3	$P_{(0)}=0,94$	$P_{(0)}=0,67$	$P_{(0)}=0,62$
Dímero D (mg/L)	0,13±0,07	0,12±0,06	0,13±0,05	$P_{(0)}=0,98$	$P_{(0)}=0,89$	$P_{(0)}=0,91$

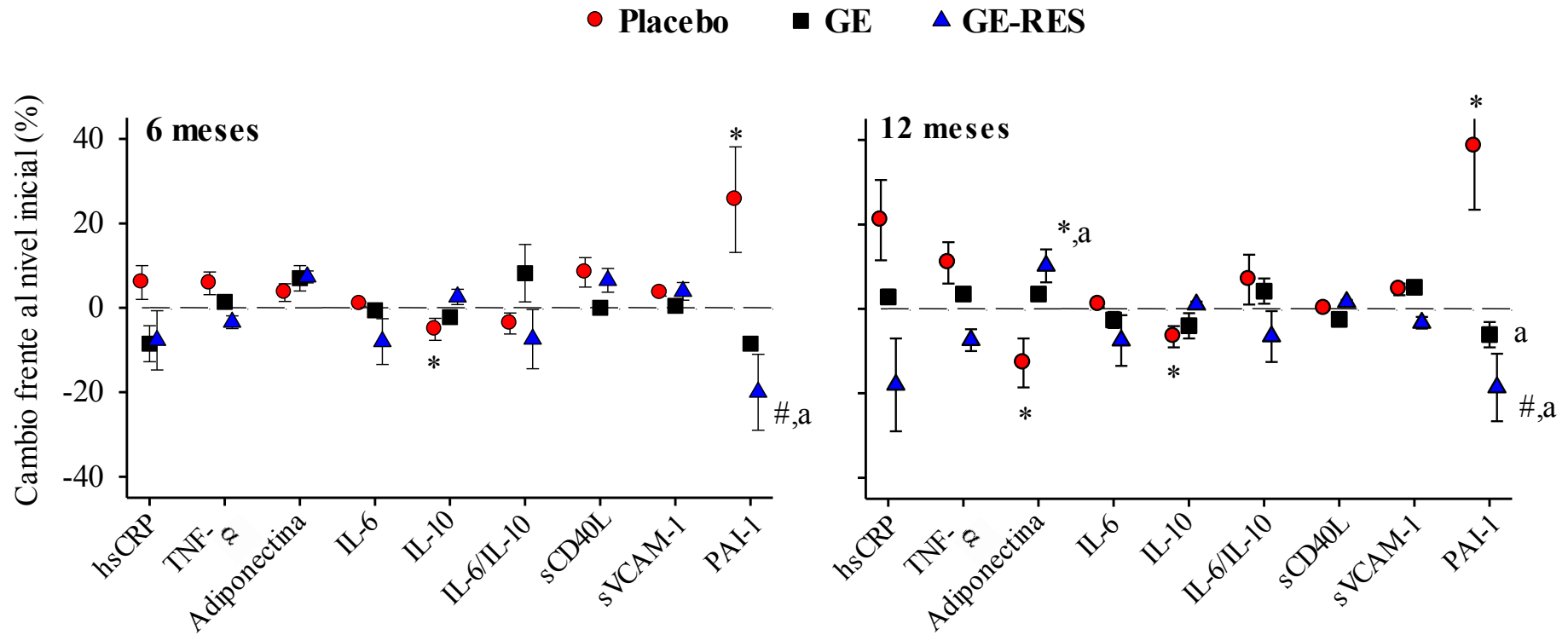
Los valores se presentan como media±DE.  $P_{(0)}$ ,  $P$  en la inclusión (obtenido con ANOVA). GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; Hcys, homocisteína; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; PAI-1, inhibidor del activador de plasminógeno 1; sVCAM-1, molécula soluble de adhesión de células vasculares tipo 1; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa.

En el grupo GE ningún marcador fue significativamente afectado (**Tabla 4.9**, **Figura 4.5**) aunque previno la subida del PAI-1 observada en el grupo placebo. En el grupo GE-RES, se observó una disminución dosis-dependiente estadísticamente no significativa de 8% ( $P=0,09$ ) y 18% ( $P=0,17$ ) en la hsCRP, tras 6 y 12 meses de intervención, respectivamente. A pesar de disminuir tras 12 meses la hsCRP un 38% en el grupo GE-RES en comparación con el grupo placebo, la diferencia no fue estadísticamente significativa (**Tabla 4.9**, **Figura 4.6**). Sin embargo, la adiponectina en el suero aumentó en el grupo GE-RES (10%; 1,2 mg/mL, IC 95%: 0,2 a 2,3,  $P=0,01$ ), encontrándose un aumento en el nivel de este marcador en el 80% de pacientes del grupo GE-RES (**Figura 4.6**). A los 12 meses de intervención, los valores de adiponectina fueron un 23% más elevados en el grupo de GE-RES que en placebo ( $P<0,05$ ) (**Tabla 4.9**, **Figuras. 4.5** y **4.6**). Con respecto al PAI-1, se observó una disminución alrededor de un 19% en el grupo GE-RES ( $P=0,05$ ; **Tabla 4.9**, **Figura**

4.5) después de 12 meses. Se observaron diferencias significativas entre los grupos placebo y GE-RES a los 6 y 12 meses de intervención, así como entre los grupos placebo y GE después de 12 meses (Tabla 4.9, Figura 4.5). Además, aunque no se llegó a la significación estadística, la Figura 2 muestra las claras diferencias encontradas entre los tres grupos para las variables TNF- $\alpha$  e IL-6/IL-10, tras 12 meses de ensayo.



**Figura 4.6.** Efecto sobre la concentración de adiponectina en suero. Cada conjunto de 3 símbolos rellenos conectados por líneas representa los valores de adiponectina para cada voluntario individualmente en cada momento del seguimiento. Los símbolos huecos designan la concentración media de cada grupo con la respectiva DE, al inicio y tras 12 meses de intervención.



**Figura 4.5.** Porcentaje de cambios en los niveles de inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1 (PAI-1) y de marcadores relacionados con la inflamación tras 6 y 12 meses de estudio frente a los valores iniciales. GE, extracto de uva convencional; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol. Los voluntarios consumieron 1 cápsula/día durante los primeros 6 meses del ensayo y 2 cápsulas/día durante los 6 meses siguientes. Los cambios se expresan como media $\pm$ DE. Cambios intragrupos frente a los valores iniciales: \* $P$ <0,05; # $P$ =0,05. Diferencias en comparación con el grupo placebo: <sup>a</sup> $P$ <0,05. hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; sCD40L, ligando CD40 soluble; sVCAM-1, molécula soluble de adhesión de las células vasculares soluble tipo 1.

**Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular**

**Tabla 4.9.** Cambios en variables relacionadas con inflamación y fibrinólisis en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular, a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos			
	Meses	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
hsCRP (mg/L)	6	3,5±2,1	3,2±1,6	3,6±3,7	$P_{(0-6)}=0,21$	$P_{(0-6)}=0,67$	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(6)}=0,43$	$P_{(6)}=0,38$	$P_{(6)}=0,94$
	12	4,0±1,8	3,6±2,2	3,2±2,1	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,66$	$P_{(6-12)}=0,56$ $P_{(0-12)}=0,95$	$P_{(6-12)}=0,40$ $P_{(0-12)}=0,17$	$P_{(12)}=0,05$	$P_{(12)}=0,20$	$P_{(12)}=0,51$
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	6	14,5±9,2	14,4±8,6	14,4±8,6	$P_{(0-6)}=0,63$	$P_{(0-6)}=0,93$	$P_{(0-6)}=0,56$	$P_{(6)}=0,96$	$P_{(6)}=0,99$	$P_{(6)}=0,95$
	12	15,2±7,0	14,7±9,9	13,8±8,2	$P_{(6-12)}=0,38$ $P_{(0-12)}=0,49$	$P_{(6-12)}=0,75$ $P_{(0-12)}=0,78$	$P_{(6-12)}=0,30$ $P_{(0-12)}=0,15$	$P_{(12)}=0,55$	$P_{(12)}=0,56$	$P_{(12)}=0,97$
Adiponectina ( $\mu$ g/mL)	6	11,4±6,8	12,0±5,2	13,3±5,6	$P_{(0-6)}=0,55$	$P_{(0-6)}=0,25$	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,80$	$P_{(6)}=0,35$	$P_{(6)}=0,48$
	12	9,6±4,4	11,6±4,8	13,6±5,2	$P_{(6-12)}=0,00 \downarrow 15\%$ $P_{(0-12)}=0,01 \downarrow 12\%$	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,48$	$P_{(6-12)}=0,03 \uparrow 2\%$ $P_{(0-12)}=0,01 \uparrow 10\%$	$P_{(12)}=0,18$	$P_{(12)}=0,01$	$P_{(12)}=0,17$
IL-6 (pg/mL)	6	2,6±1,8	2,2±1,6	2,1±1,7	$P_{(0-6)}=0,99$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,83$	$P_{(6)}=0,28$	$P_{(6)}=0,30$	$P_{(6)}=0,71$
	12	2,6±1,8	2,1±1,6	2,1±1,7	$P_{(6-12)}=0,56$ $P_{(0-12)}=0,80$	$P_{(6-12)}=0,51$ $P_{(0-12)}=0,10$	$P_{(6-12)}=0,88$ $P_{(0-12)}=0,84$	$P_{(12)}=0,29$	$P_{(12)}=0,31$	$P_{(12)}=0,73$
IL-10 (pg/mL)	6	18,6±13,3	22,2±17,2	23,6 ±17,0	$P_{(0-6)}=0,01 \downarrow 5\%$	$P_{(0-6)}=0,40$	$P_{(0-6)}=0,42$	$P_{(6)}=0,36$	$P_{(6)}=0,23$	$P_{(6)}=0,71$
	12	18,3±1	21,8±16,9	23,3±16,9	$P_{(6-12)}=0,55$ $P_{(0-12)}=0,03 \downarrow 6\%$	$P_{(6-12)}=0,33$ $P_{(0-12)}=0,14$	$P_{(6-12)}=0,93$ $P_{(0-12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,37$	$P_{(12)}=0,20$	$P_{(12)}=0,65$
IL-6/IL10	6	0,15±0,12	0,13±0,11	0,11±0,10	$P_{(0-6)}=0,64$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(6)}=0,68$	$P_{(6)}=0,27$	$P_{(6)}=0,46$
	12	0,17±0,14	0,13±0,11	0,11±0,10	$P_{(6-12)}=0,10$ $P_{(0-12)}=0,19$	$P_{(6-12)}=0,50$ $P_{(0-12)}=0,48$	$P_{(6-12)}=0,66$ $P_{(0-12)}=0,27$	$P_{(12)}=0,32$	$P_{(12)}=0,13$	$P_{(12)}=0,60$
sCD40L (pg/mL)	6	8,1±3,4	6,5±3,8	6,5±2,8	$P_{(0-6)}=0,54$	$P_{(0-6)}=0,97$	$P_{(0-6)}=0,61$	$P_{(6)}=0,21$	$P_{(6)}=0,09$	$P_{(6)}=0,10$
	12	7,5±2,5	6,4±3,3	6,2±2,1	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,30$	$P_{(6-12)}=0,69$ $P_{(0-12)}=0,78$	$P_{(6-12)}=0,55$ $P_{(0-12)}=0,83$	$P_{(12)}=0,66$	$P_{(12)}=0,99$	$P_{(12)}=0,82$
sVCAM-1 (ng/mL)	6	1101±251	1039±330	1071±561	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(0-6)}=0,91$	$P_{(0-6)}=0,36$	$P_{(6)}=0,59$	$P_{(6)}=0,66$	$P_{(6)}=0,90$
	12	1111±347	1087±332	996±443	$P_{(6-12)}=0,82$ $P_{(0-12)}=0,28$	$P_{(6-12)}=0,31$ $P_{(0-12)}=0,39$	$P_{(6-12)}=0,09$ $P_{(0-12)}=0,26$	$P_{(12)}=0,78$	$P_{(12)}=0,13$	$P_{(12)}=0,22$
Fibrinógeno (g/L) (2-4,5)	6	3,5±0,4	3,5±0,5	3,6±0,6	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,76$	$P_{(0-6)}=0,66$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,46$	$P_{(6)}=0,76$
	12	3,4±0,5	3,4±0,6	3,6±0,5	$P_{(6-12)}=0,66$ $P_{(0-12)}=0,39$	$P_{(6-12)}=0,60$ $P_{(0-12)}=0,36$	$P_{(6-12)}=0,80$ $P_{(0-12)}=0,35$	$P_{(12)}=0,88$	$P_{(12)}=0,25$	$P_{(12)}=0,31$
PAI-1 (ng/mL)	6	23,5±15,5	18,1±10,2	13,6±7,2	$P_{(0-6)}=0,02 \uparrow 26\%$	$P_{(0-6)}=0,55$	$P_{(0-6)}=0,05 \downarrow 21\%$	$P_{(6)}=0,11$	$P_{(6)}=0,00$	$P_{(6)}=0,18$
	12	25,9±15,0	18,6±9,5	14,0±7,0	$P_{(6-12)}=0,26$ $P_{(0-12)}=0,00 \uparrow 38\%$	$P_{(6-12)}=0,52$ $P_{(0-12)}=0,62$	$P_{(6-12)}=0,50$ $P_{(0-12)}=0,05 \downarrow 19\%$	$P_{(12)}=0,02$	$P_{(12)}=0,00$	$P_{(12)}=0,17$

**Tabla 4.9 (cont.).** Cambios en variables relacionadas con inflamación y fibrinólisis en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular, a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Dímero D (mg/L) (0-0,3)	6	0,13±0,08	0,12±0,08	0,12±0,04	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,38	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,74	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,08	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =1,00	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,89	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,89
	12	0,14±0,08	0,13±0,08	0,12±0,07	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,76	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,64	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,75	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,93	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,69	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,75

Los valores se expresan como media±DE. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 cápsulas de los 6 hasta los 12 meses de ensayo. GE, extracto de uva convencional; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; PAI-1, inhibidor del activador de plasminógeno 1; sCD40L, ligando CD40 soluble; sVCAM-1, molécula soluble de adhesión de células vasculares tipo 1; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa. Las flechas señalan el % de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Las diferencias significativas ( $P<0,05$ ) están en negrita. Se muestran los valores de referencia (entre paréntesis) establecidos en el hospital para el fibrinógeno y el dímero D.



### 5.3.2.2. Perfil lipídico del suero

No se encontraron diferencias significativas, entre los tres grupos, en los valores iniciales de las variables lipídicas evaluadas (**Tabla 4.10**).

En general, apenas se observaron cambios a lo largo del ensayo para estas variables en ninguno de los grupos (**Tabla 4.11**). En el caso del colesterol total ocurrieron pequeñas fluctuaciones en los niveles medidos que resultaron ser estadísticamente significativas, pero siempre dentro de los valores normales esperados para esta variable y sin relevancia desde un punto de vista clínico. La carga aterogénica de lípidos de la sangre, medida como la fracción de colesterol que no incluye las lipoproteínas alta densidad (no-cHDL), disminuyó un 10% en el grupo GE ( $P=0,01$ ) y un 13% en el grupo GE-RES ( $P=0,03$ ) (**Tabla 4.11**).

**Tabla 4.10.** Variables referentes al perfil lipídico determinadas, en la inclusión, en pacientes (n=75) de prevención secundaria de riesgo cardiovascular.

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Tcol (mg/dL)	162±37	157±31	166±35	$P_{(0)}=0,34$	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,24$
Triglicéridos (mg/dL)	139±61	138±49	123±48	$P_{(0)}=0,31$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,80$
cLDL (mg/dL)	89±31	81±26	92±32	$P_{(0)}=0,38$	$P_{(0)}=0,70$	$P_{(0)}=0,19$
cHDL (mg/dL)	39,5±8,7	43,2±10,2	44,8±7,2	$P_{(0)}=0,42$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,83$
No-cHDL (mg/dL)	140±35	127±31	135±33	$P_{(0)}=0,33$	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,46$
cLDL/cHDL	2,3±0,8	1,9±0,7	2,0±0,6	$P_{(0)}=0,08$	$P_{(0)}=0,21$	$P_{(0)}=0,56$

Los valores se presentan como media±DE.  $P_{(0)}$ ,  $P$  en la inclusión (obtenido con ANOVA). cHDL, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; cLDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; GE, extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; Tcol, colesterol total; No-cHDL, colesterol sin incluir la porción cHDL.

**Tabla 4.11.** Cambios en variables referentes al perfil lipídico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
TCoL (mg/dL) (131-201)	6	159±37	166±30	162±33	$P_{(0-6)}=0,21$	$P_{(0-6)}=0,02 \uparrow 5\%$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(6)}=0,21$	$P_{(6)}=0,29$	$P_{(6)}=0,27$
	12	169±39	157±34	161±37	$P_{(6-12)}=0,04 \uparrow 6\%$ $P_{(0-12)}=0,29$	$P_{(6-12)}=0,02 \downarrow 5\%$ $P_{(0-12)}=0,20$	$P_{(6-12)}=0,16$ $P_{(0-12)}=0,02 \downarrow 3\%$	$P_{(12)}=0,01$	$P_{(12)}=0,03$	$P_{(12)}=0,48$
Triglicéridos (mg/dL) (35-201)	6	133±65	149±78	131±66	$P_{(0-6)}=0,46$	$P_{(0-6)}=0,37$	$P_{(0-6)}=0,50$	$P_{(6)}=0,77$	$P_{(6)}=0,74$	$P_{(6)}=0,97$
	12	155±85	142±51	124±52	$P_{(6-12)}=0,16$ $P_{(0-12)}=0,28$	$P_{(6-12)}=0,62$ $P_{(0-12)}=0,65$	$P_{(6-12)}=0,55$ $P_{(0-12)}=0,96$	$P_{(12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,17$	$P_{(12)}=0,53$
cLDL (mg/dL) (83-130)	6	88±30	94±25	95±25	$P_{(0-6)}=0,23$	$P_{(0-6)}=0,11$	$P_{(0-6)}=0,76$	$P_{(6)}=0,43$	$P_{(6)}=0,36$	$P_{(6)}=0,91$
	12	90±37	83±25	91±29	$P_{(6-12)}=0,26$ $P_{(0-12)}=0,82$	$P_{(6-12)}=0,28$ $P_{(0-12)}=0,56$	$P_{(6-12)}=0,10$ $P_{(0-12)}=0,07$	$P_{(12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,87$	$P_{(12)}=0,34$
cHDL (mg/dL) (35-91)	6	41,4±13,6	44,9±9,9	42,4±11,0	$P_{(0-6)}=0,37$	$P_{(0-6)}=0,13$	$P_{(0-6)}=0,12$	$P_{(6)}=0,48$	$P_{(6)}=0,65$	$P_{(6)}=0,26$
	12	41,3±7,9	42,7±8,1	42,4±8,1	$P_{(6-12)}=0,98$ $P_{(0-12)}=0,22$	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,68$	$P_{(6-12)}=0,96$ $P_{(0-12)}=0,11$	$P_{(12)}=0,85$	$P_{(12)}=0,78$	$P_{(12)}=0,60$
No-cHDL (mg/dL)	6	127±34	121±28	123±32	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,72$	$P_{(6)}=0,85$	$P_{(6)}=0,85$
	12	127±40	114±32	119±35	$P_{(6-12)}=0,78$ $P_{(0-12)}=0,31$	$P_{(6-12)}=0,22$ $P_{(0-12)}=0,01 \downarrow 10\%$	$P_{(6-12)}=0,62$ $P_{(0-12)}=0,03 \downarrow 13\%$	$P_{(12)}=0,22$	$P_{(12)}=0,39$	$P_{(12)}=0,68$
cLDL/cHDL	6	2,2±0,8	2,1±0,7	2,3±0,7	$P_{(0-6)}=0,64$	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(6)}=0,61$	$P_{(6)}=0,75$	$P_{(6)}=0,39$
	12	2,3±1,1	2,0±0,6	2,2±0,7	$P_{(6-12)}=0,89$ $P_{(0-12)}=0,70$	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,65$	$P_{(6-12)}=0,35$ $P_{(0-12)}=0,32$	$P_{(12)}=0,25$	$P_{(12)}=0,77$	$P_{(12)}=0,36$

Los valores se expresan como media±DE. El rango de valores normales se muestra debajo de cada variable biológica. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 cápsulas de 6 hasta 12 meses. cHDL, colesterol HDL; cLDL, colesterol LDL; GE, extracto de uva convencional; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; HDL, lipoproteínas de alta densidad; LDL, lipoproteínas de baja densidad; No\_cHDL, colesterol sin incluir la porción correspondiente a las lipoproteínas de alta densidad; Tcol, colesterol total. Las flechas señalan el % de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Las diferencias significativas ( $P<0,05$ ) están en negrita.

### **5.3.2.3. Discusión**

La adiponectina es una citoquina antiinflamatoria implicada en la patogénesis de la vulnerabilidad de lesiones coronarias ejerciendo efectos pleiotrópicos protectores sobre el sistema vascular (Zhu, *et al.*, 2008). Se ha publicado que la liberación de adiponectina es menor en el tejido adiposo epicárdico de pacientes con obesidad y EAC (Karastergiou, *et al.*, 2010). A pesar de su papel antiinflamatorio y protector contra las ECV, se han correlacionado niveles altos de adiponectina con la mortalidad de pacientes EAC en condiciones clínicas específicas (Cavusoglu, *et al.*, 2006). Sin embargo, en este caso, se ha sugerido que estos niveles más elevados son una consecuencia más que una causa, es decir, un intento de proteger, reducir o limitar el daño endotelial provocada por un entorno inflamatorio en estos pacientes (Teoh, *et al.*, 2006, Kunita, *et al.*, 2012). De hecho, se ha visto que los valores de adiponectina en suero son inferiores en pacientes de EAC con placas vulnerables (Nakamura, *et al.*, 2004), infarto agudo de miocardio (IAM) y angina inestable que en aquellos pacientes con angina estable (Barseghian, *et al.*, 2011). En este sentido, los métodos para aumentar la adiponectina se han descrito como una terapia prometedora para la prevención y el tratamiento de la EAC (Kohler & Grant, 2000). A diferencia de la adiponectina, los niveles de PAI-1 están más elevados en los pacientes de EAC (Belalcazar, *et al.*, 2011) y su reducción puede disminuir el riesgo de ECV, ya que un deterioro en la ruta fibrinolítica (causada por altos niveles circulantes de PAI-1) se asocia con el desarrollo de IAM (Mertens, *et al.*, 2005). La relación inversa entre la adiponectina y PAI-1 también se ha descrito en pacientes con angina estable (Maruyoshi, *et al.*, 2004) y obesos (Chan, *et al.*, 2008). Sin embargo, la evolución de estos marcadores no se analiza rutinariamente en el seguimiento de pacientes con EAC bajo medicación optimizada (Kaba, *et al.*, 2004, Rivera, *et al.*, 2009). De hecho, en el presente ensayo, a pesar de que los pacientes

estaban siendo tratados según estándares basados en la evidencia clínica (**Tabla 4.7**), tanto la adiponectina como el PAI-1 presentaron una evolución desfavorable en el grupo placebo a lo largo del ensayo. En este sentido, cabe resaltar de nuevo que una intervención dietética diaria, durante un año, con un nutracéutico de uva enriquecido en RES haya contribuido al aumento de los niveles de adiponectina y a la disminución de los niveles circulantes de PAI-1, algo que está de acuerdo con varios estudios *in vitro* y animales tras la exposición a esta molécula (Olholm, *et al.*, 2010). Otros mecanismos relacionados con la protección cardiovascular ejercida por RES incluyen la disminución de los niveles de endotelina-1, moléculas de adhesión al endotelio y citoquinas proinflamatorias, de la agregación plaquetaria, y el aumento de síntesis y activación de sirtuínas, entre otros (Petrowski *et al.*, 2011). Los mecanismos específicos de acción asociados al consumo de GE-RES se han relacionado con la regulación de genes implicados en el metabolismo lipídico y trastornos metabólicos (Azorín *et al.*, 2012b) y con una reducción del estrés oxidativo vascular involucrada en la prevención de las lesiones ateroscleróticas tempranas en la aorta de cerdos alimentados con una dieta aterogénica (Azorín *et al.*, 2012a). Sin embargo, a pesar de los abundantes beneficios cardiovasculares preclínicos descritos para el RES (Petrowski *et al.*, 2011), los ensayos clínicos en humanos son muy escasos, y ninguno a tan largo plazo como el descrito aquí (Vang *et al.*, 2011). En estudios recientes, que incluyeron un seguimiento corto (máximo de 3 meses), se verificó que el consumo de RES mejoró la función endotelial en pacientes de EAC (Magyar *et al.*, 2012), y cuando se combinó con fructoborato de calcio, resultó en una disminución significativa en los niveles de hsCRP y la fracción N-terminal del péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) en pacientes con angina pectoris estable (Militaru *et al.*, 2013).

## **Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular**

Durante el presente ensayo, estos pacientes con EAC estaban siendo tratados con dosis de estatinas más altas que en individuos de PP de riesgo cardiovascular (es decir, 20 mg de rosuvastatina, 40-80 mg de atorvastatina, 80 mg de fluvastatina o 40 mg de pravastatina). Se sabe que los tratamientos con altas dosis de estatinas están correlacionados con una reducción de la CRP (Nissen, *et al.*, 2005), por ejemplo, 40 mg de pravastatina disminuyeron en cohortes de PS, la hsCRP en 13% (media de 2,7 a 2,4 mg/L) (Albert, *et al.*, 2001) y 18% (media de 3,6 a 3,1 mg/L) (Ridker *et al.*, 1999) después de 6 meses y 5 años, respectivamente. Por lo tanto, la alta dosis de estatinas podría estar detrás del efecto añadido menos pronunciado, tras el consumo de GE-RES, en la reducción de los niveles hsCRP en estos pacientes de PS en comparación con la disminución observada en los pacientes de PP. Sin embargo, la evolución de los niveles de hsCRP en este ensayo fue claramente mejor en el grupo GE-RES que en los otros grupos (**Figura 4.5**). Por otro lado, los efectos ejercidos en los niveles de PAI-1 y adiponectina tras el consumo de GE-RES fueron más claros en pacientes con EAC estable que en pacientes de PP de riesgo cardiovascular (**Capítulo 4**). Quizá, la medicación tomada por estos pacientes de PS en lo que respecta al control del perfil lipídico en sangre, como es el caso de las estatinas, explica los reducidos cambios encontrados en los valores de los lípidos séricos evaluados, los cuales estuvieron siempre dentro del rango normal y sin relevancia desde un punto de vista clínico.

Se produjeron 13 eventos durante este ensayo, es decir se contabilizaron como eventos los casos de síndrome coronario agudo (SCA) como angina estable, infarto de miocardio sin elevación del segmento ST (IAMSEST) e ictus/ataque isquémico transitorio. No hubo muertes durante el transcurso del ensayo. Concretamente se verificaron 5 (3 SCA, 1 revascularización coronaria electiva (RCE), y 1 ictus), 6 (3 SCA, 2 RCE, 1 ictus) y 2 SCA en los grupos placebo, GE y GE-RES, respectivamente.

En el global, durante el ensayo hubo una tasa de eventos en estos pacientes de alto riesgo del 16%. La información disponible para pacientes estables en PS es escasa, sin embargo, esta tasa de eventos es similar a la descrita en otros estudios observacionales, como el REACH (Steg, *et al.*, 2007), en el cual una población con un perfil similar a este presentó una tasa de eventos de 15,4% en el primer año de seguimiento. Con respecto a registros españoles, se ha descrito que poblaciones similares han presentado una tasa de eventos entre 14 y 44% tras 3 años de seguimiento según los factores de riesgo cardiovascular (Moreno-Palanco, *et al.*, 2011). Otros registros como el CLARIFY (Steg, *et al.*, 2012) mostraron una tasa anual de eventos inferior a esta (alrededor del 7%); sin embargo, los accidentes cerebrovasculares no figuraban en el cómputo de eventos. En el presente ensayo, se produjeron menos eventos cardíacos en el grupo GE-RES, sin embargo, se necesita un mayor tamaño muestral y un mayor tiempo de seguimiento para confirmar este resultado positivo.

### **5.3.3. Seguridad y detección de metabolitos**

#### **5.3.3.1. Evaluación de la seguridad de los productos del estudio**

Al igual que en el ensayo en pacientes de PP (**Capítulo 4**), también se ha evaluado la incidencia de reacciones adversas a los productos objeto de estudio así como posibles interacciones desfavorables con la medicación tomada por los pacientes de PS. En este sentido, también se monitorizó la función hepática, tiroidea y renal (**Tabla 4.12**), así como variables hematológicas y se distribuyeron cuestionarios sobre la experimentación de efectos adversos (**Figura 3.4**).

***Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular***

**Tabla 4.12.** Variables serbioquímicas, hematológicas y otras en la inclusión determinadas en pacientes (n=75) de prevención secundaria de riesgo cardiovascular.

Variable	Valores experimentales			Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=25)	GE (n=25)	GE-RES (n=25)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Heys (µmol/L)	6,2±1,6	6,5±2,8	5,7±1,5	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,30$
GGT (U/L)	39±21	40±27	34±17	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,54$
AST (U/L)	24±10	24±6	30±11	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,72$
ALT (U/L)	27±15	33±17	33±17	$P_{(0)}=0,21$	$P_{(0)}=0,16$	$P_{(0)}=0,89$
LDH (U/L)	305±46	317±59	361±72	$P_{(0)}=0,89$	$P_{(0)}=0,18$	$P_{(0)}=0,18$
FA (U/L)	184±60	190±57	180±45	$P_{(0)}=0,63$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,80$
CPK (U/L)	112±69	114±52	154±67	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,33$	$P_{(0)}=0,26$
Glucosa (mg/dL)	104±15	121±19	120±37	$P_{(0)}=0,34$	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=0,34$
HbA1c (%)	6,3±1,3	6,4±0,4	6,6±1,3	$P_{(0)}=0,54$	$P_{(0)}=0,89$	$P_{(0)}=0,65$
TSH (mU/L)	2,4±1,2	1,7±0,8	1,7±1,2	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,07$	$P_{(0)}=0,45$
T4 (ng/dL)	1,3±0,2	1,3±0,2	1,2±0,2	$P_{(0)}=0,12$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,51$
Bilirrubina (mg/dL)	0,6±0,3	0,5±0,2	0,6±0,2	$P_{(0)}=0,64$	$P_{(0)}=0,80$	$P_{(0)}=0,48$
Creatinina (mg/dL)	1,0±0,3	1,0±0,3	0,9±0,2	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,72$	$P_{(0)}=0,89$
Urato (mg/dL)	6,5±1,6	6,2±1,5	5,8±1,5	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,25$	$P_{(0)}=0,50$
Albumina (g/L)	45±2	44±3	45±2	$P_{(0)}=0,54$	$P_{(0)}=0,21$	$P_{(0)}=0,42$
VSG (mm/1 <sup>h</sup> )	9,3±8,1	12,9±12,6	7,6±7,9	$P_{(0)}=0,28$	$P_{(0)}=0,60$	$P_{(0)}=0,11$
Hemoglobina (g/L)	14,2±1,4	13,9±1,4	14,5±1,2	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,15$
Hematocrito (L/L)	42,0±4,1	41,2±4,2	43,0±3,0	$P_{(0)}=0,48$	$P_{(0)}=0,35$	$P_{(0)}=0,08$
VCM (fL)	91,8±3,7	90,0±3,1	91,0±5,6	$P_{(0)}=0,18$	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,42$
Leucocitos (x10 <sup>9</sup> /L)	8,3±2,2	7,5±1,4	7,8±2,1	$P_{(0)}=0,13$	$P_{(0)}=0,31$	$P_{(0)}=0,57$
Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L)	4,7±1,5	4,3±1,2	4,3±1,5	$P_{(0)}=0,38$	$P_{(0)}=0,40$	$P_{(0)}=0,97$
Linfocitos (x10 <sup>9</sup> /L)	2,6±0,7	2,3±0,8	2,4±0,8	$P_{(0)}=0,14$	$P_{(0)}=0,29$	$P_{(0)}=0,62$
Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> /L)	0,24±0,10	0,18±0,12	0,22±0,13	$P_{(0)}=0,10$	$P_{(0)}=0,62$	$P_{(0)}=0,23$
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)	207±24	200±49	200±46	$P_{(0)}=0,57$	$P_{(0)}=0,58$	$P_{(0)}=0,98$

Los valores se presentan como media±DE.  $P_{(0)}$ ,  $P$  en la inclusión (obtenido con ANOVA). ALT, alanina transaminasa; AST, aspartato transaminasa; CPK, creatina fosfoquinasa; FA, fosfatasa alcalina; GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; GGT,  $\gamma$  glutamil transferasa; HbA1c; hemoglobina glicada; Heys, homocisteína; LDH, lactato deshidrogenasa; T4, tiroxina; TSH; tirotopina; VCM, volumen corpuscular medio; VSG, velocidad de eritrosedimentación.

Se observaron cambios estadísticamente significativos en algunas de las variables relacionadas con la función hepática, tiroidea y renal, pero siempre dentro del intervalo de valores considerados normales y/o careciendo de relevancia clínica (**Tabla 4.13**).

**Tabla 4.13.** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea y hepática, hematológicas y otras en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos			
	Meses	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	6	30,7±4,2	31,4±4,7	30,1±5,5	$P_{(0-6)}=0,83$	$P_{(0-6)}=0,17$	$P_{(0-6)}=0,79$	$P_{(6)}=0,88$	$P_{(6)}=0,69$	$P_{(6)}=0,57$
	12	30,7±4,0	31,4±4,7	30,3±5,9	$P_{(6-12)}=0,84$ $P_{(0-12)}=0,94$	$P_{(6-12)}=0,93$ $P_{(0-12)}=0,16$	$P_{(6-12)}=0,51$ $P_{(0-12)}=0,55$	$P_{(12)}=0,89$	$P_{(12)}=0,70$	$P_{(12)}=0,59$
PSS (mm Hg)	6	121±20	129±18	126±18	$P_{(0-6)}=0,64$	$P_{(0-6)}=0,37$	$P_{(0-6)}=0,60$	$P_{(6)}=0,07$	$P_{(6)}=0,51$	$P_{(6)}=0,21$
	12	131±20	136±23	135±23	$P_{(6-12)}=0,07$ $P_{(0-12)}=0,33$	$P_{(6-12)}=0,20$ $P_{(0-12)}=0,07$	$P_{(6-12)}=0,09$ $P_{(0-12)}=0,43$	$P_{(12)}=0,38$	$P_{(12)}=0,21$	$P_{(12)}=0,64$
PSD (mm Hg)	6	71±11	73±10	73±10	$P_{(0-6)}=0,56$	$P_{(0-6)}=0,68$	$P_{(0-6)}=0,40$	$P_{(6)}=0,98$	$P_{(6)}=0,89$	$P_{(6)}=0,86$
	12	73±10	72±9	74±12	$P_{(6-12)}=0,51$ $P_{(0-12)}=0,78$	$P_{(6-12)}=0,73$ $P_{(0-12)}=0,51$	$P_{(6-12)}=0,54$ $P_{(0-12)}=0,24$	$P_{(12)}=0,57$	$P_{(12)}=0,69$	$P_{(12)}=0,30$
FC (latidos/min)	6	63±8	61±5	61±9	$P_{(0-6)}=0,12$	$P_{(0-6)}=0,18$	$P_{(0-6)}=0,13$	$P_{(6)}=0,57$	$P_{(6)}=0,41$	$P_{(6)}=0,87$
	12	63±9	59±1	61±7	$P_{(6-12)}=0,72$ $P_{(0-12)}=0,06$	$P_{(6-12)}=0,31$ $P_{(0-12)}=0,07$	$P_{(6-12)}=0,87$ $P_{(0-12)}=0,26$	$P_{(12)}=0,13$	$P_{(12)}=0,26$	$P_{(12)}=0,57$
Hcys (μmol/L)	6	6,0±1,8	6,0±2,0	5,9±1,5	$P_{(0-6)}=0,40$	$P_{(0-6)}=0,52$	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,79$	$P_{(6)}=0,74$	$P_{(6)}=0,94$
	12	6,5±2,0	6,3±2,1	6,0±1,8	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,49$	$P_{(6-12)}=0,25$ $P_{(0-12)}=1,00$	$P_{(6-12)}=0,88$ $P_{(0-12)}=0,33$	$P_{(12)}=0,65$	$P_{(12)}=0,39$	$P_{(12)}=0,66$
GGT (U/L) (1-24)	6	41±32	38±23	32±13	$P_{(0-6)}=0,70$	$P_{(0-6)}=0,32$	$P_{(0-6)}=0,41$	$P_{(6)}=0,68$	$P_{(6)}=0,36$	$P_{(6)}=0,59$
	12	41±22	38±27	40±38	$P_{(6-12)}=0,91$ $P_{(0-12)}=0,61$	$P_{(6-12)}=0,75$ $P_{(0-12)}=0,67$	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,25$	$P_{(12)}=0,85$	$P_{(12)}=0,65$	$P_{(12)}=0,51$
AST (U/L) (8-30)	6	27±8	26±7	28±11	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,36$	$P_{(0-6)}=0,17$	$P_{(6)}=0,68$	$P_{(6)}=0,78$	$P_{(6)}=0,48$
	12	27±9	24±7	31±11	$P_{(6-12)}=0,82$ $P_{(0-12)}=0,18$	$P_{(6-12)}=0,12$ $P_{(0-12)}=0,79$	$P_{(6-12)}=0,07$ $P_{(0-12)}=0,85$	$P_{(12)}=0,90$	$P_{(12)}=0,33$	$P_{(12)}=0,25$
ALT (U/L) (7-35)	6	31±11	35±16	31±15	$P_{(0-6)}=0,47$	$P_{(0-6)}=0,76$	$P_{(0-6)}=0,17$	$P_{(6)}=0,41$	$P_{(6)}=0,98$	$P_{(6)}=0,34$
	12	30±12	31±15	32±14	$P_{(6-12)}=0,86$ $P_{(0-12)}=0,53$	$P_{(6-12)}=0,10$ $P_{(0-12)}=0,36$	$P_{(6-12)}=0,13$ $P_{(0-12)}=0,72$	$P_{(12)}=0,73$	$P_{(12)}=0,44$	$P_{(12)}=0,65$
LDH (U/L) (208-378)	6	302±37	316±56	337±43	$P_{(0-6)}=0,85$	$P_{(0-6)}=0,94$	$P_{(0-6)}=0,04 \downarrow 7\%$	$P_{(6)}=0,62$	$P_{(6)}=0,21$	$P_{(6)}=0,40$
	12	309±62	333±41	348±44	$P_{(6-12)}=0,71$ $P_{(0-12)}=0,71$	$P_{(6-12)}=0,24$ $P_{(0-12)}=0,22$	$P_{(6-12)}=0,24$ $P_{(0-12)}=0,30$	$P_{(12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,21$	$P_{(12)}=0,59$
FA (U/L)	6	167±48	167±48	163±40	$P_{(0-6)}=0,02 \downarrow 10\%$	$P_{(0-6)}=0,11$	$P_{(0-6)}=0,51$	$P_{(6)}=0,66$	$P_{(6)}=0,86$	$P_{(6)}=0,55$



**Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular**

(70-290)	12	162±51	164±40	161±45	$P_{(6-12)}=0,58$	$P_{(6-12)}=0,76$	$P_{(6-12)}=0,22$	$P_{(12)}=0,28$	$P_{(12)}=0,21$	$P_{(12)}=0,91$
CPK (U/L)	6	155±111	119±59	131±59	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(0-6)}=0,67$	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,50$	$P_{(6)}=0,74$	$P_{(6)}=0,75$
(26-140)	12	169±132	96±47	129±44	$P_{(6-12)}=0,69$	$P_{(6-12)}=0,10$	$P_{(6-12)}=0,93$	$P_{(12)}=0,18$	$P_{(12)}=0,58$	$P_{(12)}=0,44$
Glucosa (mg/dL)	6	112±27	123±22	120±29	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(0-6)}=0,53$	$P_{(0-6)}=0,85$	$P_{(6)}=0,88$	$P_{(6)}=0,33$	$P_{(6)}=0,36$
(74-100)	12	123±34	129±28	116±24	$P_{(6-12)}=0,01 \uparrow 10\%$	$P_{(6-12)}=0,33$	$P_{(6-12)}=0,94$	$P_{(12)}=0,17$	$P_{(12)}=0,00$	$P_{(12)}=0,09$
HbA1c (%)	6	6,8±1,4	6,5±0,6	6,6±0,9	$P_{(0-6)}=0,00 \uparrow 8\%$	$P_{(0-6)}=0,82$	$P_{(0-6)}=0,96$	$P_{(6)}=0,00$	$P_{(6)}=0,01$	$P_{(6)}=0,24$
(6,0-7,0)	12	6,8±1,6	6,6±0,6	6,6±0,8	$P_{(6-12)}=0,79$	$P_{(6-12)}=0,26$	$P_{(6-12)}=0,44$	$P_{(12)}=0,01$	$P_{(12)}=0,00$	$P_{(12)}=0,51$
TSH (mU/L)	6	2,3±0,8	1,9±1,1	1,6±1,0	$P_{(0-6)}=0,64$	$P_{(0-6)}=0,59$	$P_{(0-6)}=0,62$	$P_{(6)}=0,20$	$P_{(6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,46$
(0,35-5,5)	12	2,2±0,8	1,9±1,1	1,7±1,1	$P_{(6-12)}=0,62$	$P_{(6-12)}=0,44$	$P_{(6-12)}=0,23$	$P_{(12)}=0,52$	$P_{(12)}=0,17$	$P_{(12)}=0,51$
T4 (ng/dL)	6	1,1±0,2	1,2±0,2	1,1±0,2	$P_{(0-6)}=0,04 \downarrow 10\%$	$P_{(0-6)}=0,25$	$P_{(0-6)}=0,04 \downarrow 10\%$	$P_{(6)}=0,28$	$P_{(6)}=0,34$	$P_{(6)}=0,11$
(0,9-1,77)	12	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,2	$P_{(6-12)}=0,20$	$P_{(6-12)}=0,19$	$P_{(6-12)}=0,06$	$P_{(12)}=0,56$	$P_{(12)}=0,83$	$P_{(12)}=0,72$
Bilirrubina (mg/dL)	6	0,6±0,3	0,5±0,2	0,5±0,2	$P_{(0-6)}=0,13$	$P_{(0-6)}=0,60$	$P_{(0-6)}=0,00 \downarrow 24\%$	$P_{(6)}=0,89$	$P_{(6)}=0,15$	$P_{(6)}=0,20$
(0,3-1,24)	12	0,5±0,1	0,6±0,2	0,5±0,2	$P_{(6-12)}=0,92$	$P_{(6-12)}=0,08$	$P_{(6-12)}=0,06$	$P_{(12)}=0,28$	$P_{(12)}=0,49$	$P_{(12)}=0,08$
Creatinina (mg/dL)	6	0,9±0,3	0,9±0,2	0,9±0,2	$P_{(0-6)}=0,00 \downarrow 8\%$	$P_{(0-6)}=0,32$	$P_{(0-6)}=0,92$	$P_{(6)}=0,57$	$P_{(6)}=0,30$	$P_{(6)}=0,58$
(0,5-1,1)	12	1,0±0,3	0,9±0,2	0,9±0,2	$P_{(6-12)}=0,00 \uparrow 8\%$	$P_{(6-12)}=0,10$	$P_{(6-12)}=0,13$	$P_{(12)}=0,95$	$P_{(12)}=0,62$	$P_{(12)}=0,65$
Urato (mg/dL)	6	6,4±1,7	5,9±1,2	6,0±1,5	$P_{(0-6)}=0,75$	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,38$	$P_{(6)}=0,63$	$P_{(6)}=0,55$	$P_{(6)}=0,33$
(2,6-6,1)	12	6,8±2,1	6,0±1,3	5,9±1,5	$P_{(6-12)}=0,06$	$P_{(6-12)}=0,35$	$P_{(6-12)}=0,94$	$P_{(12)}=0,64$	$P_{(12)}=0,50$	$P_{(12)}=0,70$
Albúmina (g/L) (34-48)	6	44,0±3,1	45,1±3,8	43,2±2,6	$P_{(0-6)}=0,82$	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,81$	$P_{(6)}=0,28$	$P_{(6)}=0,66$	$P_{(6)}=0,12$
VSG (mm/1 <sup>h</sup> )	6	10,1±11,1	10,1±8,8	9,0±6,8	$P_{(6-12)}=0,28$	$P_{(6-12)}=0,33$	$P_{(6-12)}=0,14$	$P_{(12)}=0,03$	$P_{(12)}=0,56$	$P_{(12)}=0,11$
(1-30)	12	42,2±2,8	46,4±3,2	45,1±2,4	$P_{(0-12)}=0,34$	$P_{(0-12)}=0,00 \uparrow 5\%$	$P_{(0-12)}=0,13$	$P_{(12)}=0,80$	$P_{(12)}=0,95$	$P_{(12)}=0,76$
Hematocrito (dL/L)	6	42,2±3,6	41,7±4,2	41,7±3,9	$P_{(0-6)}=0,68$	$P_{(0-6)}=0,10$	$P_{(0-6)}=0,43$	$P_{(6)}=1,00$	$P_{(6)}=0,73$	$P_{(6)}=0,72$
(37,5-47,0)	12	9,4±8,5	10,1±10,1	9,2±7,0	$P_{(6-12)}=0,97$	$P_{(6-12)}=0,97$	$P_{(6-12)}=0,86$	$P_{(12)}=0,80$	$P_{(12)}=0,95$	$P_{(12)}=0,76$
Leucocitos	6	42,2±3,6	41,7±4,2	41,7±3,9	$P_{(0-6)}=0,69$	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,06$	$P_{(6)}=0,70$	$P_{(6)}=0,69$	$P_{(6)}=1,00$
	12	41,9±3,8	42,1±3,4	42,2±4,2	$P_{(6-12)}=0,60$	$P_{(6-12)}=0,58$	$P_{(6-12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,86$	$P_{(12)}=0,80$	$P_{(12)}=0,93$
	6	8,1±1,8	7,6±2,0	8,1±2,4	$P_{(0-12)}=0,88$	$P_{(0-12)}=0,11$	$P_{(0-12)}=0,11$	$P_{(6)}=0,41$	$P_{(6)}=0,99$	$P_{(6)}=0,37$
	12				$P_{(0-6)}=0,52$	$P_{(0-6)}=0,73$	$P_{(0-6)}=0,28$			

(x10 <sup>9</sup> /L)	12	8,1±2,5	7,6±1,6	7,9±2,0	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,94	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,96	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,47	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,44	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,72	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,65
(44-110,6)					<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,41	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,65	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,74			

**Tabla 4.13 (cont.).** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea y hepática, hematológicas y otras en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Linfocitos (x10 <sup>9</sup> /L) (0,95-4,8)	6	2,5±0,5	2,3±0,7	2,4±0,8	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,30	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,67	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,21	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,66	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,38
	12	2,6±0,8	2,2±0,7	2,3±0,7	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,40	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,76	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,08	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,09	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,13	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,81
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L) (140-400)	6	196±30	194±46	195±46	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,17	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,32	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,43	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,86	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,92	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,93
	12	184±30	185±42	194±48	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,15	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,18	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,94	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,92	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,44	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,47
Hemoglobina (g/dL) (12-15,6)	6	14,4±1,3	14,1±1,4	14,2±1,4	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,16	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,24	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,08	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,47	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,48	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,97
	12	14,5±1,3	14,3±1,2	14,3±1,6	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,64	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,37	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,34	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,59	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,60	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,97
VCM (fL) (81-98)	6	92,4±2,5	90,3±3,5	92,0±5,5	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,21	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,54	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,11	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,10	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,15
	12	93,7±2,4	92,1±3,7	92,1±7,7	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,10	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,06	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,95	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,33	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,29	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,96
Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L) (1,85-7,90)	6	4,6±1,3	4,3±2,0	4,3±1,3	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,68	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,91	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,99	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,65	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,62	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,96
	12	4,3±1,6	4,5±1,3	4,6±1,6	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,48	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,54	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,54	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,54	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,78
Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> /L) (0,0-0,7)	6	0,22±0,12	0,18±0,13	0,24±0,18	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,45	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,87	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,48	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,42	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,67	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,20
	12	0,23±0,10	0,18±0,11	0,20±0,14	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,83	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =1,00	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,06	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,26	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,43	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,74

Los valores se expresan como media±DE. El rango de valores normales, cuando establecido en el hospital, se muestra debajo de cada variable biológica. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 cápsulas de 6 hasta 12 meses. ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; CPK, creatina fosfoquinasa; FA, fosfatasa alcalina; FC, frecuencia cardiaca; GE, extracto de uva convencional; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; GGT,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa; HbA1c, hemoglobina glicada; IMC, índice de masa corporal; LDH, lactato deshidrogenasa; PSS, presión sanguínea sistólica; PSD, presión sanguínea diastólica; TSH, tirotropina; T4, tiroxina; VCM, volumen corpuscular medio; VSG, velocidad de eritrosedimentación. Las flechas señalan el % de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Las diferencias significativas (*P*<0,05) están en negrita.

De manera semejante, los pocos cambios estadísticamente significativos registrados en algunas variables hematológicas evaluadas durante el ensayo, también carecieron de relevancia clínica (**Tabla 4.13**). Todos los pacientes completaron el estudio y ningún experimentó efectos adversos (intolerancia, dispepsia, reacciones alérgicas, etc.) con respecto al consumo de los productos suministrados durante el ensayo clínico.

### **5.3.3.2. Metabolitos derivados de compuestos fenólicos**

No se pudo detectar la presencia de RES ni de metabolitos metabólicos circulantes provenientes del extracto de uva en las muestras de plasma usando equipos de UPLC-QqQ.

### **5.3.3.3. Discusión**

Se ha intentado correlacionar los efectos del GE-RES con el RES y/o otros metabolitos metabólicos circulantes provenientes de este extracto. Se analizaron muestras de plasma usando una técnica analítica con elevada sensibilidad, UPLC-QqQ, pero no se pudo detectar RES ni otros metabolitos circulantes derivados de los polifenoles de la uva. Esto estaba de acuerdo con lo observado en el ensayo clínico en pacientes de PP de riesgo cardiovascular (**Capítulo 4**) y en cerdos (Azorín *et al.*, 2012a) usando el mismo nutraceutico. Explicaciones para este fenómeno incluyen la baja dosis de RES usada (8 mg durante los primeros 6 meses de intervención y 16 mg hasta el final de la misma), el rápido metabolismo y aclarado del RES y también debido a que las extracciones de sangre se llevaron a cabo después de una noche en ayunas. En este sentido, al igual que en el ensayo con pacientes de PP de riesgo cardiovascular, también aquí es aplicable la “Paradoja del resveratrol” (Azorín *et al.*, 2011), comentada en el

capítulo anterior. La asociación directa entre RES y/o metabolitos circulantes específicos y la actividad biológica observada está lejos de ser demostrada *in vivo*. Sin embargo, nuestros resultados indican que la exposición crónica a dosis bajas de RES junto a otros polifenoles de la uva como la formulación ensayada en estos ensayos clínicos puede estar directamente relacionada a los beneficios observados. Esto implica que cada nutracéutico en general, y aquellos específicos que contienen RES en particular, deben demostrar tanto su seguridad como su eficacia.

#### **5.4. Limitaciones y conclusión**

Al igual que el estudio realizado en pacientes de PP de riesgo cardiovascular (**Capítulo 4**), este estudio presenta algunas limitaciones. Las condicionantes de carácter económico, logístico, burocrático, etc., que delimitan el diseño y desarrollo de un ensayo clínico, en este caso unicéntrico, impidieron que el seguimiento de los pacientes fuera más largo para evaluar la posible aparición de eventos futuros de ECV en estos pacientes. Otro ejemplo, fue la necesidad de restringir la medición de ApoB y LDLox a solo uno de los ensayos llevados a cabo y se optó por el ensayo en pacientes de PP, ya que las dosis de estatinas para el control del perfil lipídico en estos pacientes son menores que las en PS y, de ahí que la probabilidad de observar cambios clínicos relevantes pudiera ser mayor. Por otro lado, tal y como se ha comentado también en el capítulo anterior, la división de los voluntarios en tres grupos, concebida para identificar la importancia del RES en comparación con el resto de polifenoles presentes en la uva (grupo GE vs GE-RES), implicó un tamaño muestral por grupo más reducido. Sin embargo, si el ensayo en pacientes de PP de riesgo cardiovascular se focalizó en los efectos observados en marcadores de riesgo, en este ensayo también se buscó explorar

## **Ensayo clínico en pacientes de prevención secundaria de riesgo cardiovascular**

los posibles mecanismos moleculares subyacentes. Para ello, se hizo un estudio génico en células sanguíneas de sangre periférica (PBMC) aisladas de la subpoblación de pacientes varones diabéticos e hipertensos (n=35) incluida en esta cohorte de pacientes (ver **Capítulo 6**).

En pacientes con EAC estable, el consumo diario de este nutraceutico, que contiene extracto de uva enriquecido en RES, durante 1 año aumentó los niveles de adiponectina en el suero y redujo los del inhibidor del activador de plasminógeno de tipo 1. La ausencia de reacciones adversas a los productos objeto de estudio así como de interacciones desfavorables con la medicación tomada por los pacientes apuntan concluyentemente hacia la seguridad de este nutraceutico. La presencia de RES en el conjunto polifenólico de este extracto de uva parece ser esencial para ejercer estos efectos. Los datos obtenidos garantizan investigaciones adicionales con este nutraceutico como un posible suplemento alimenticio seguro, coadyuvante a la medicación estándar en este tipo de pacientes. El verdadero reto que se presenta ahora es evaluar el impacto clínico sobre la incidencia de eventos cardiovasculares en estos pacientes, un objetivo muy ambicioso que requiere un diseño multicéntrico con un mínimo seguimiento de 3 a 5 años.



# CAPÍTULO 6

*Estudio del efecto de un extracto de uva rico en resveratrol sobre la regulación de la expresión génica en células mononucleares de pacientes hipertensos, con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria*

---

**Tomé-Carneiro J.**, Larrosa M., Yáñez-Gascón M.J., Dávalos A., Gil-Zamorano J., González M., García-Almagro F.J., Ruiz Ros J.A., Tomás-Barberán F.A., Espín J.C., García-Conesa M.T. (2013). One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease. *Pharmacol Res.* 72C:69-82.





## **CAPÍTULO 6**

---

# **6. Estudio del efecto de un extracto de uva rico en resveratrol sobre la regulación de la expresión génica en células mononucleares de pacientes hipertensos, con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

### **6.1. Resumen**

En este capítulo nos propusimos investigar los cambios moleculares en las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC) asociados al año de ingesta diaria del extracto de uva enriquecido en RES (GE-RES) en pacientes varones hipertensos, con *diabetes mellitus* tipo 2 (T2DM) y enfermedad arterial coronaria (EAC) estable. Los mecanismos moleculares desencadenados tras el consumo de RES por personas no se conocen aún en profundidad. Por tanto, decidimos seleccionar una subpoblación de los pacientes con EAC estable para analizar cambios transcriptómicos en PBMC ya que estas células participan de manera importante en diversos estadios de la aterotrombosis.

Utilizamos *microarrays* y RT-PCR para analizar cambios en la expresión de genes y microARN (miR), participantes en la respuesta inflamatoria, modulados por el consumo de GE-RES en comparación con un placebo y extracto de uva sin RES (GE). También se analizaron los cambios en varias variables serobioquímicas, marcadores inflamatorios y fibrinolíticos. El consumo de GE o GE-RES no afectó al peso corporal,

## **Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

presión arterial, glucosa, hemoglobina glicada (HbA1c) o lípidos séricos, más allá de los valores regulados por la medicación optimizada en estos pacientes. Se verificó un cambio significativo en los niveles de fosfatasa alcalina (ALP) e IL-6. La expresión de las citoquinas proinflamatorias *CCL3*, *IL-1 $\beta$*  y *TNF- $\alpha$* , se redujo significativamente mientras que la expresión del represor transcripcional *LRRFIP-1* aumentó en PBMC de los pacientes que tomaron GE-RES. Se encontró una alta correlación entre un grupo de miR, involucrados en la regulación de la respuesta inflamatoria (miR-21, miR-181b, miR-663, miR-30c2, miR-155 y miR-34a), además de una modulación en el grupo que consumió GE-RES durante 12 meses. Nuestros resultados proporcionan una evidencia preliminar de que el consumo a largo plazo de este GE-RES regula la expresión de citoquinas pro-inflamatorias claves con la participación de miR relacionados con inflamación en la circulación de las células inmunes en estos pacientes polimedcados sugiriendo que ejerce un efecto inmunomodulador beneficioso.

## **6.2. Introducción**

Aún está por completar el conocimiento de los mecanismos celulares y moleculares específicos *in vivo* y desencadenados en los seres humanos, por el consumo habitual de dosis bajas de polifenoles de la dieta, que puedan explicar los beneficios de estos compuestos. Esto se aplica a uno de los polifenoles más ampliamente investigados, el RES. El conocimiento actual sobre la biodisponibilidad, bioactividad, y mecanismos celulares y rutas supuestamente reguladas por el RES ha sido recientemente revisado (Timmers *et al.*, 2012, Švajger y Jeras, 2012). Los ensayos en humanos realizados hasta ahora han evidenciado que el RES ejerce beneficios cardioprotectores mediante la mejora en marcadores inflamatorios y aterogénicos,

metabolismo de la glucosa, y función endotelial. Estos efectos se han demostrado con dosis altas y bajas de RES y en voluntarios sanos y pacientes medicados. Sin embargo, no están todavía claros los mecanismos específicos a través de los cuales estos efectos pueden ocurrir. Se trata de una cuestión compleja ya que la(s) molécula(s) real(es) o señales intermediarias responsables por los efectos no han sido plenamente identificadas, ni se ha establecido en qué tejidos, órganos o células específicas se produce la acción directa de estas moléculas o señales. Además, la obtención de muestras de tejido de pacientes o voluntarios sanos no es una tarea sencilla y no facilita esta investigación. Por otra parte, las PBMC, constituidas sobre todo por linfocitos T y B, y monocitos, son consideradas una fuente celular útil para estudios *in vivo* de expresión génica y moleculares en los seres humanos (Mesko *et al.*, 2011). Las PBMC se recogen fácilmente y se cree que reflejan la regulación metabólica que ocurre en otros tejidos (por ejemplo, hígado o tejido adiposo) (de Mello *et al.*, 2012). Estas células están implicadas en la respuesta inmune y también en trastornos relacionados con inflamación como la aterosclerosis, desempeñando un papel importante en la manifestación aguda de desestabilización de la placa (Benagiano *et al.*, 2003). El estudio de los cambios moleculares que ocurren en PBMC en respuesta a modificaciones en la dieta puede ayudar a comprender los mecanismos subyacentes a los beneficios de los polifenoles de la dieta contra enfermedades relacionadas inflamación como las enfermedades cardiovasculares (ECV) o la T2DM (Milenkovic *et al.*, 2011). Además de lo anterior, está la cuestión de la complejidad emergente de los mecanismos de regulación moleculares por el cual las células responden a las perturbaciones del entorno como, por ejemplo, la exposición a compuestos dietéticos o derivados metabolitos. Un patrón común de la respuesta celular es la regulación temprana de factores transcripcionales clave seguida por cambios más sostenidos en la

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

transcripción de genes y rutas regulatorias implicadas en la respuesta específica (módulos de regulación) (Bar-Joseph, *et al.*, 2012). La regulación de la expresión génica ocurre no sólo en la síntesis de transcritos, sino también durante la traducción y procesamiento de ARNm. Los mecanismos de traducción son particularmente importantes en la regulación de las respuestas metabólicas a nutrientes, donde se requiere una respuesta rápida y eficaz. Entre los mecanismos de control traduccional, los ARN no codificantes como los miR tienen un impacto importante en la regulación de la expresión génica (Adeli, 2011). Se ha descrito que los miR regulan diversas rutas metabólicas y tienen un papel en la inflamación y en la patogenia de enfermedades metabólicas como la T2DM (Dehwah *et al.*, 2012). De manera importante, se ha descrito recientemente que varios polifenoles asociados con un menor riesgo de trastornos cardiovasculares y metabólicos modulan los niveles de los miR. Entre estos, se ha demostrado que el RES modifica el metabolismo de la glucosa y lípidos a través de la regulación de varios miR en monocitos humanos, un proceso que puede estar implicado en las propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas de este polifenol (Bladé *et al.*, 2013). Sin embargo, estos efectos se observaron en monocitos en cultivo expuestos a concentraciones muy altas de RES (30-50  $\mu\text{M}$ ), que no se han encontrado nunca en el plasma humano tras la ingesta de RES puro o productos que lo contengan (Tili *et al.*, 2010).

En el **Capítulo 5** se ha demostrado que el consumo diario de GE-RES, que contiene una baja dosis de RES, por pacientes con EAC, durante un año, mejoró los niveles de adiponectina y PAI-1 en suero. Teniendo en cuenta que no hay muchos estudios que exploren los mecanismos moleculares a través de los cuales dosis bajas de RES pueden modular la respuesta inflamatoria *in vivo* y ninguno en pacientes polimedcados con EAC, quisimos investigar los cambios moleculares asociados a la

ingesta regular de GE-RES. Se analizaron los cambios de expresión génica inducidos por el GE-RES en comparación con un grupo placebo y un grupo que consumió GE, en PBMC aisladas de una subpoblación de la cohorte de pacientes utilizada en el **Capítulo 5**, formada por varones hipertensos con T2DM. Además, se analizaron los cambios en los niveles de varios miR conocidos por estar implicados en la regulación de la respuesta inflamatoria, y se exploraron las relaciones entre la expresión de genes y miR seleccionados y marcadores séricos específicos.

## **6.3. Resultados**

### **6.3.1. Efecto en variables lipídicas, inflamatorias, fibrinolíticas y hematológicas**

Las características demográficas y clínicas, así como los valores correspondientes a varias variables relacionadas con los perfiles lipídico, inflamatorio, fibrinolítico, y hematológico de los 35 pacientes a tiempo basal (inclusión en el estudio) se presentan en la **Tabla 6.1**. En esta tabla se puede constatar que, al inicio del estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para ninguna de las variables demográficas y clínicas examinadas y que por tanto el grupo seleccionado era muy homogéneo. Los valores de las variables determinadas tras 6 y 12 meses de consumo así como las comparaciones intra-grupo e inter-grupo se muestran en la **Tabla 6.2**. En general, estos resultados revelan que la mayoría de las variables examinadas, después del consumo de placebo, GE o GE-RES, no presentaron modificaciones significativas y/o carecieron de relevancia clínica.

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**Tabla 6.1.** Características demográficas y clínicas, y variables lipídicas, inflamatorias, fibrinolíticas y hematológicas determinadas en pacientes diabéticos e hipertensos (n=35), con EAC estable y tratados de acuerdo con guías actualmente aceptadas para la prevención secundaria de ECV, en el momento de la inclusión en el estudio de expresión génica.

Variable	Valores experimentales				Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=9)	GE (n=13)	GE-RES (n=13)	Global (n=13)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Edad (años)	57±10	60±10	63±12	60±11	$P_{(0)}=0,59$	$P_{(0)}=0,27$	$P_{(0)}=0,54$
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,5±3,8	32,2±5,1	31,0±5,1	31,3±4,7	$P_{(0)}=0,41$	$P_{(0)}=0,82$	$P_{(0)}=0,51$
PSS (mm Hg)	129±21	129±20	130±16	129±18	$P_{(0)}=0,93$	$P_{(0)}=0,90$	$P_{(0)}=0,81$
PSD (mm Hg)	74±13	73±9	70±10	72±10	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=0,48$	$P_{(0)}=0,46$
FC (latidos/min)	63±13	69±9	64±10	66±10	$P_{(0)}=0,17$	$P_{(0)}=0,81$	$P_{(0)}=0,20$
FEVI	55±3	55±5	55±5	55±4	$P_{(0)}=0,94$	$P_{(0)}=0,94$	$P_{(0)}=1,00$
Fumadores, n (%)	5(56)	3(33)	2(22)	10(29)	$P_{(0)}=0,12$	$P_{(0)}=0,05$	$P_{(0)}=0,62$
Hipercolesterolemia diagnosticada, n (%)	9(100)	10(77)	12(92)	31(89)	$P_{(0)}=0,12$	$P_{(0)}=0,39$	$P_{(0)}=0,28$
Angina estable, n (%)	1(11)	2(15)	2(15)	5(14)	$P_{(0)}=0,77$	$P_{(0)}=0,77$	$P_{(0)}=1,00$
IAMSEST, n (%)	3(33)	6(46)	5(38)	14(40)	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,81$	$P_{(0)}=0,69$
IAMCEST, n (%)	5(56)	5(38)	6(46)	16(46)	$P_{(0)}=0,43$	$P_{(0)}=0,67$	$P_{(0)}=0,69$
Revascularización coronaria, n (%)	7(78)	11(85)	12(92)	30(86)	$P_{(0)}=0,68$	$P_{(0)}=0,33$	$P_{(0)}=0,54$
Stent coronario, n (%)	5(56)	8(62)	9(69)	22(63)	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,51$	$P_{(0)}=0,68$
Bypass coronario, n (%)	2(22)	3(23)	3(23)	8(23)	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=1,00$
Ictus isquémico, n (%)	1(11)	1(8)	1(8)	3(9)	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=0,32$	$P_{(0)}=1,00$
Claudicación intermitente, n (%)	3(33)	2(15)	2(15)	7(20)	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=1,00$
HFECF, n (%)	4(44)	5(38)	5(38)	14(40)	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=1,00$
Antiagregantes, n (%)	9(100)	13(100)	13(100)	35(100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Estatinas, n (%)	9(100)	13(100)	13(100)	35(100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Anti-diabéticos, n (%)	9(100)	11(100)	13(100)	35(100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Bloqueadores β, n (%)	8(89)	11(85)	9(69)	28(80)	$P_{(0)}=0,77$	$P_{(0)}=0,28$	$P_{(0)}=0,35$
BRA, n (%)	9(100)	13(100)	13(100)	35(100)	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$	$P_{(0)}=1,00$
Colesterol total (mg/dL)	158±39	154±36	165±33	159±35	$P_{(0)}=0,34$	$P_{(0)}=0,71$	$P_{(0)}=0,24$
Triglicéridos (mg/dL)	161±105	153±52	166±126	160±96	$P_{(0)}=0,85$	$P_{(0)}=0,91$	$P_{(0)}=0,72$

cLDL (mg/dL)	86±36	82±29	90±29	86±30	$P_{(0)}=0,38$	$P_{(0)}=0,70$	$P_{(0)}=0,19$
cHDL (mg/dL)	38±6	42±9	43±6	41±8	$P_{(0)}=0,42$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,83$
No-cHDL (mg/dL)	118±20	114±31	122±31	118±28	$P_{(0)}=0,33$	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,46$
cLDL/cHDL	2,3±0,9	2,0±0,8	2,2±0,5	2,1±0,7	$P_{(0)}=0,08$	$P_{(0)}=0,21$	$P_{(0)}=0,56$
Dímero D (mg/L)	0,14±0,09	0,16±0,09	0,19±0,24	0,17±0,16	$P_{(0)}=0,98$	$P_{(0)}=0,89$	$P_{(0)}=0,91$
Fibrinógeno (g/L)	3,4±0,4	3,6±0,5	3,5±0,6	3,5±0,5	$P_{(0)}=0,10$	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,59$
GGT (U/L)	23±7	23±6	31±14	26±11	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,75$	$P_{(0)}=0,54$
AST (U/L)	30±21	30±12	38±22	33±18	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,72$
ALT (U/L)	44±22	32±20	62±68	46±46	$P_{(0)}=0,21$	$P_{(0)}=0,16$	$P_{(0)}=0,89$
ALP (U/L)	176±27	174±47	186±62	180±50	$P_{(0)}=0,63$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,80$
CPK (U/L)	125±78	133±109	160±74	139±118	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,33$	$P_{(0)}=0,26$
Glucosa (mg/dL)	148±69	132±30	151±54	143±50	$P_{(0)}=0,34$	$P_{(0)}=0,96$	$P_{(0)}=0,34$
HbA1c (%)	7,0±1,0	7,1±1,3	7,4±1,6	7,1±1,3	$P_{(0)}=0,54$	$P_{(0)}=0,89$	$P_{(0)}=0,65$
Tirotropina (mU/L)	2,3±0,8	1,6±0,6	2,1±0,9	2,0±0,8	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,07$	$P_{(0)}=0,45$
Tiroxina (ng/dL)	1,3±0,2	1,3±0,2	1,2±0,2	1,4±0,2	$P_{(0)}=0,12$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,51$
Creatinina (mg/dL)	1,1±0,3	1,1±0,3	0,9±0,2	1,0±0,3	$P_{(0)}=0,78$	$P_{(0)}=0,72$	$P_{(0)}=0,89$
Urato (mg/dL)	6,6±1,3	6,4±1,7	5,6±1,4	6,2±1,5	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,25$	$P_{(0)}=0,50$
Albumina (g/L)	45±3	45±2	45±4	45±3	$P_{(0)}=0,54$	$P_{(0)}=0,21$	$P_{(0)}=0,42$
hsCRP (mg/L)	3,9±2,4	3,3±1,2	4,9±4,5	4,0±3,1	$P_{(0)}=0,24$	$P_{(0)}=0,64$	$P_{(0)}=0,12$
Adiponectina (µg/mL)	11,2±8,2	10,9±5,2	10,3±4,2	12,1±6,0	$P_{(0)}=0,11$	$P_{(0)}=0,08$	$P_{(0)}=0,79$
TNF-α (pg/mL)	12,5±6,4	12,1±6,6	11,7±5,5	10,7±5,6	$P_{(0)}=0,79$	$P_{(0)}=0,67$	$P_{(0)}=0,86$
IL-6 (pg/mL)	2,4±1,0	2,4±2,0	3,0±1,9	2,6±1,8	$P_{(0)}=0,42$	$P_{(0)}=0,31$	$P_{(0)}=0,60$
IL-10 (pg/mL)	27±12	16±12	23±16	21±14	$P_{(0)}=0,43$	$P_{(0)}=0,37$	$P_{(0)}=0,88$
IL-6/IL-10	0,11±0,06	0,15±0,12	0,16±0,11	0,14±0,11	$P_{(0)}=0,38$	$P_{(0)}=0,30$	$P_{(0)}=0,86$
PAI-1 (ng/mL)	26±18	21±18	17±9	21±14	$P_{(0)}=0,94$	$P_{(0)}=0,67$	$P_{(0)}=0,62$
sVCAM-1 (ng/mL)	990±258	1012±292	1012±377	1006±310	$P_{(0)}=0,88$	$P_{(0)}=0,88$	$P_{(0)}=0,99$
Homocisteína (µmol/L)	6,2±2,2	7,8±3,3	6,3±2,8	6,8±2,8	$P_{(0)}=0,22$	$P_{(0)}=0,93$	$P_{(0)}=0,21$
VSG (mm/1 <sup>ª</sup> h)	8,4±5,2	11,3±8,0	8,7±6,2	9,6±6,6	$P_{(0)}=0,36$	$P_{(0)}=0,91$	$P_{(0)}=0,38$
Hemoglobina (g/dL)	14,0±1,3	14,0±1,6	14,7±0,9	14,3±1,3	$P_{(0)}=0,55$	$P_{(0)}=0,44$	$P_{(0)}=0,15$
Hematocrito (L/L)	41,3±4,0	41,7±4,4	43,2±2,3	42,2±3,6	$P_{(0)}=0,81$	$P_{(0)}=0,26$	$P_{(0)}=0,32$

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**Tabla 6.1 (cont.).** Características demográficas y clínicas, y variables lipídicas, inflamatorias, fibrinolíticas y hematológicas determinadas en pacientes diabéticos e hipertensos (n=35), con EAC estable y tratados de acuerdo con guías actualmente aceptadas para la prevención secundaria de ECV, en el momento de la inclusión en el estudio de expresión génica.

Variable	Valores experimentales				Comparación inter-grupos		
	Placebo (n=9)	GE (n=13)	GE-RES (n=13)	Global (n=13)	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
VCM (fL)	92,5±2,1	89,3±3,2	91,6±5,9	90,9±4,5	$P_{(0)}=0,16$	$P_{(0)}=0,70$	$P_{(0)}=0,24$
Leucocitos ( $\times 10^9/L$ )	8,7±2,5	7,6±1,5	8,3±2,2	8,1±2,0	$P_{(0)}=0,27$	$P_{(0)}=0,69$	$P_{(0)}=0,41$
Neutrófilos ( $\times 10^9/L$ )	5,1±1,5	4,4±1,2	4,9±1,8	4,8±1,5	$P_{(0)}=0,30$	$P_{(0)}=0,72$	$P_{(0)}=0,43$
Linfocitos ( $\times 10^9/L$ )	2,3±0,6	2,1±0,5	2,3±0,5	2,2±0,5	$P_{(0)}=0,34$	$P_{(0)}=0,92$	$P_{(0)}=0,32$
Eosinófilos ( $\times 10^9/L$ )	0,25±0,15	0,20±0,12	0,26±0,17	0,24±0,15	$P_{(0)}=0,46$	$P_{(0)}=0,86$	$P_{(0)}=0,29$
Plaquetas ( $\times 10^9/L$ )	200±22	199±47	192±43	197±40	$P_{(0)}=0,99$	$P_{(0)}=0,70$	$P_{(0)}=0,67$

Los valores se presentan como media±DE en caso de variables cuantitativas o como número de casos (porcentaje) para variables cualitativas. Comparación inter-grupos hecha con: ANOVA para variables cuantitativas y Chi cuadrado para variables cualitativas.  $P_{(0)}$ , valor de  $P$  en la inclusión. AAS, ácido acetil salicílico; ALP, fosfatasa alcalina; ALT, alanina transaminasa; AST, aspartato transaminasa; BRA, bloqueadores del receptor de la angiotensina II; cHDL, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; cLDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; CPK, creatina fosfoquinasa; FC, frecuencia cardiaca; FEVI, fracción de eyección ventricular izquierda; GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; GGT, gamma glutamil transferasa; HbA1c, hemoglobina glicada; HFECF, historia familiar de enfermedad coronaria precoz; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IAM(C/S)EST, infarto agudo de miocardio (con/sin) elevación del segmento ST; IL, interleuquina; No-cHDL, colesterol sin incluir la porción cHDL; PAI-1, inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1; PSD, presión sanguínea diastólica; PSS, presión sanguínea sistólica; sVCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares soluble tipo 1; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; VCM, volumen corpuscular medio; VSG, velocidad de eritrosedimentación.



**Tabla 6.2.** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea y hepática, hematológica y otras en pacientes diabéticos e hipertensos (n=35), con EAC estable y tratados de acuerdo con guías actualmente aceptadas para la prevención secundaria de ECV, a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	6	30,7±3,5	32,7±5,6	31,4±6,2	$P_{(0-6)}=0,68$	$P_{(0-6)}=0,28$	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(6)}=0,18$	$P_{(6)}=0,37$	$P_{(6)}=0,61$
	12	31,1±3,9	32,3±5,8	31,9±6,4	$P_{(6-12)}=0,75$ $P_{(0-12)}=0,58$	$P_{(6-12)}=0,38$ $P_{(0-12)}=0,70$	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,10$	$P_{(12)}=0,24$	$P_{(12)}=0,29$	$P_{(12)}=0,88$
PSS (mm Hg)	6	129±13	125±18	128±16	$P_{(0-6)}=0,94$	$P_{(0-6)}=0,38$	$P_{(0-6)}=0,56$	$P_{(6)}=0,55$	$P_{(6)}=0,87$	$P_{(6)}=0,63$
	12	139±23	137±24	137±18	$P_{(6-12)}=0,21$ $P_{(0-12)}=0,49$	$P_{(6-12)}=0,06$ $P_{(0-12)}=0,22$	$P_{(6-12)}=0,16$ $P_{(0-12)}=0,31$	$P_{(12)}=0,90$	$P_{(12)}=0,86$	$P_{(12)}=0,95$
PSD (mm Hg)	6	70±8	72±9	75±6	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,53$	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(6)}=0,59$	$P_{(6)}=0,16$	$P_{(6)}=0,34$
	12	77±9	74±11	73±10	$P_{(6-12)}=0,11$ $P_{(0-12)}=0,60$	$P_{(6-12)}=0,64$ $P_{(0-12)}=0,98$	$P_{(6-12)}=0,68$ $P_{(0-12)}=0,41$	$P_{(12)}=0,45$	$P_{(12)}=0,43$	$P_{(12)}=0,97$
FC (latidos/min)	6	60±9	64±9	61±7	$P_{(0-6)}=0,37$	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(0-6)}=0,35$	$P_{(6)}=0,22$	$P_{(6)}=0,67$	$P_{(6)}=0,37$
	12	61±63	63±6	62±9	$P_{(6-12)}=0,61$ $P_{(0-12)}=0,70$	$P_{(6-12)}=0,74$ $P_{(0-12)}=0,06$	$P_{(6-12)}=0,65$ $P_{(0-12)}=0,63$	$P_{(12)}=0,59$	$P_{(12)}=0,75$	$P_{(12)}=0,80$
TCol (mg/dL) (131-201)	6	153±27	165±29	165±32	$P_{(0-6)}=0,49$	$P_{(0-6)}=0,13$	$P_{(0-6)}=0,91$	$P_{(6)}=0,35$	$P_{(6)}=0,33$	$P_{(6)}=0,97$
	12	165±49	154±32	166±38	$P_{(6-12)}=0,23$ $P_{(0-12)}=0,47$	$P_{(6-12)}=0,20$ $P_{(0-12)}=0,96$	$P_{(6-12)}=0,94$ $P_{(0-12)}=0,89$	$P_{(12)}=0,50$	$P_{(12)}=0,96$	$P_{(12)}=0,42$
Triglicéridos (mg/dL)	6	157±110	149±60	160±90	$P_{(0-6)}=0,78$	$P_{(0-6)}=0,79$	$P_{(0-6)}=0,62$	$P_{(6)}=0,85$	$P_{(6)}=0,93$	$P_{(6)}=0,75$
	12	166±93	163±84	148±81	$P_{(6-12)}=0,67$ $P_{(0-12)}=0,83$	$P_{(6-12)}=0,42$ $P_{(0-12)}=0,55$	$P_{(6-12)}=0,48$ $P_{(0-12)}=0,31$	$P_{(12)}=0,94$	$P_{(12)}=0,65$	$P_{(12)}=0,66$
cLDL (mg/dL)	6	78±30	92±21	96±23	$P_{(0-6)}=0,38$	$P_{(0-6)}=0,18$	$P_{(0-6)}=0,43$	$P_{(6)}=0,18$	$P_{(6)}=0,10$	$P_{(6)}=0,71$
	12	88±43	81±20	96±28	$P_{(6-12)}=0,17$ $P_{(0-12)}=0,88$	$P_{(6-12)}=0,06$ $P_{(0-12)}=0,93$	$P_{(6-12)}=0,95$ $P_{(0-12)}=0,50$	$P_{(12)}=0,62$	$P_{(12)}=0,51$	$P_{(12)}=0,21$
cHDL (mg/dL)	6	38±8	42±8	40±5	$P_{(0-6)}=0,73$	$P_{(0-6)}=0,98$	$P_{(0-6)}=0,13$	$P_{(6)}=0,25$	$P_{(6)}=0,58$	$P_{(6)}=0,50$
	12	39±5	41±8	40±7	$P_{(6-12)}=0,53$ $P_{(0-12)}=0,30$	$P_{(6-12)}=0,40$ $P_{(0-12)}=0,38$	$P_{(6-12)}=0,92$ $P_{(0-12)}=0,13$	$P_{(12)}=0,66$	$P_{(12)}=0,79$	$P_{(12)}=0,85$
No-cHDL (mg/dL)	6	110±34	122±26	125±31	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(0-6)}=0,18$	$P_{(0-6)}=0,61$	$P_{(6)}=0,35$	$P_{(6)}=0,24$	$P_{(6)}=0,80$
	12	123±34	116±26	121±34	$P_{(6-12)}=0,09$ $P_{(0-12)}=0,55$	$P_{(6-12)}=0,30$ $P_{(0-12)}=0,80$	$P_{(6-12)}=0,52$ $P_{(0-12)}=0,91$	$P_{(12)}=0,58$	$P_{(12)}=0,89$	$P_{(12)}=0,65$
cLDL/cHDL	6	2,2±1,0	2,3±0,6	2,4±0,7	$P_{(0-6)}=0,65$	$P_{(0-6)}=0,15$	$P_{(0-6)}=0,16$	$P_{(6)}=0,79$	$P_{(6)}=0,42$	$P_{(6)}=0,55$
	12	2,3±1,1	2,0±0,5	2,2±0,5	$P_{(6-12)}=0,53$ $P_{(0-12)}=0,92$	$P_{(6-12)}=0,15$ $P_{(0-12)}=0,82$	$P_{(6-12)}=0,12$ $P_{(0-12)}=0,97$	$P_{(12)}=0,43$	$P_{(12)}=0,77$	$P_{(12)}=0,56$
hsCRP (mg/L)	6	3,6±2,2	2,9±1,2	3,6±3,0	$P_{(0-6)}=0,60$	$P_{(0-6)}=0,35$	$P_{(0-6)}=0,18$	$P_{(6)}=0,91$	$P_{(6)}=0,87$	$P_{(6)}=0,96$
	12	4,5±1,8	3,0±1,2	3,7±2,5	$P_{(6-12)}=0,06$ $P_{(0-12)}=0,10$	$P_{(6-12)}=0,83$ $P_{(0-12)}=0,46$	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,52$	$P_{(12)}=0,12$	$P_{(12)}=0,22$	$P_{(12)}=0,71$

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**Tabla 6.2 (cont.).** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea y hepática, hematológica y otras en pacientes diabéticos e hipertensos (n=35), con EAC estable y tratados de acuerdo con guías actualmente aceptadas para la prevención secundaria de ECV, a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	6	12,1 $\pm$ 6,9	11,7 $\pm$ 5,8	11,2 $\pm$ 5,7	$P_{(0-6)}$ =0,56	$P_{(0-6)}$ =0,63	$P_{(0-6)}$ =0,60	$P_{(6)}$ =0,88	$P_{(6)}$ =0,73	$P_{(6)}$ =0,83
	12	13,9 $\pm$ 6,9	11,9 $\pm$ 5,2	10,7 $\pm$ 5,8	$P_{(6-12)}$ =0,08 $P_{(0-12)}$ =0,16	$P_{(6-12)}$ =0,83 $P_{(0-12)}$ =0,81	$P_{(6-12)}$ =0,45 $P_{(0-12)}$ =0,22	$P_{(12)}$ =0,08	$P_{(12)}$ =0,11	$P_{(12)}$ =0,86
Adiponectina ( $\mu$ g/mL)	6	10,9 $\pm$ 8,4	11,5 $\pm$ 5,9	11,2 $\pm$ 5,5	$P_{(0-6)}$ =0,38	$P_{(0-6)}$ =0,83	$P_{(0-6)}$ =0,51	$P_{(6)}$ =0,78	$P_{(6)}$ =0,75	$P_{(6)}$ =0,57
	12	9,1 $\pm$ 5,9	11,1 $\pm$ 5,1	11,5 $\pm$ 4,9	$P_{(6-12)}$ =0,15 $P_{(0-12)}$ = <b>0,03</b> ↓ <b>19%</b>	$P_{(6-12)}$ =0,94 $P_{(0-12)}$ =0,74	$P_{(6-12)}$ =0,06 $P_{(0-12)}$ =0,09	$P_{(12)}$ =0,36	$P_{(12)}$ =0,65	$P_{(12)}$ =0,69
IL-6 (pg/mL)	6	2,4 $\pm$ 1,0	2,5 $\pm$ 1,9	2,6 $\pm$ 1,8	$P_{(0-6)}$ =0,79	$P_{(0-6)}$ =0,24	$P_{(0-6)}$ =0,01↓ <b>12%</b>	$P_{(6)}$ =0,58	$P_{(6)}$ =0,46	$P_{(6)}$ =0,69
	12	2,4 $\pm$ 1,0	2,4 $\pm$ 1,9	2,6 $\pm$ 1,9	$P_{(6-12)}$ =0,91 $P_{(0-12)}$ =0,89	$P_{(6-12)}$ =0,19 $P_{(0-12)}$ =0,40	$P_{(6-12)}$ =0,72 $P_{(0-12)}$ = <b>0,00</b> ↓ <b>14%</b>	$P_{(12)}$ =0,82	$P_{(12)}$ =0,41	$P_{(12)}$ =0,59
IL-10 (pg/mL)	6	25,1 $\pm$ 14,0	15,8 $\pm$ 12,4	22,5 $\pm$ 16,3	$P_{(0-6)}$ =0,14	$P_{(0-6)}$ =0,32	$P_{(0-6)}$ =0,97	$P_{(6)}$ =0,13	$P_{(6)}$ =0,62	$P_{(6)}$ =0,22
	12	24,2 $\pm$ 13,8	15,3 $\pm$ 11,8	22,4 $\pm$ 15,8	$P_{(6-12)}$ =0,19 $P_{(0-12)}$ = <b>0,04</b> ↓ <b>10%</b>	$P_{(6-12)}$ =0,76 $P_{(0-12)}$ =0,31	$P_{(6-12)}$ =0,93 $P_{(0-12)}$ =0,92	$P_{(12)}$ =0,11	$P_{(12)}$ =0,67	$P_{(12)}$ =0,19
IL-6/IL10	6	0,13 $\pm$ 0,08	0,17 $\pm$ 0,12	0,15 $\pm$ 0,13	$P_{(0-6)}$ =0,17	$P_{(0-6)}$ =0,36	$P_{(0-6)}$ =0,53	$P_{(6)}$ =0,68	$P_{(6)}$ =0,27	$P_{(6)}$ =0,46
	12	0,14 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,11	0,15 $\pm$ 0,13	$P_{(6-12)}$ =0,39 $P_{(0-12)}$ = <b>0,04</b> ↓ <b>11%</b>	$P_{(6-12)}$ =0,25 $P_{(0-12)}$ =0,13	$P_{(6-12)}$ =0,84 $P_{(0-12)}$ =0,59	$P_{(12)}$ =0,32	$P_{(12)}$ =0,13	$P_{(12)}$ =0,60
sVCAM-1 (ng/mL)	6	1062 $\pm$ 290	1016 $\pm$ 286	1025 $\pm$ 441	$P_{(0-6)}$ =0,33	$P_{(0-6)}$ =0,94	$P_{(0-6)}$ =0,83	$P_{(6)}$ =0,77	$P_{(6)}$ =0,81	$P_{(6)}$ =0,95
	12	1121 $\pm$ 313	1077 $\pm$ 238	977 $\pm$ 338	$P_{(6-12)}$ =0,42 $P_{(0-12)}$ =0,14	$P_{(6-12)}$ =0,33 $P_{(0-12)}$ =0,37	$P_{(6-12)}$ =0,43 $P_{(0-12)}$ =0,62	$P_{(12)}$ =0,73	$P_{(12)}$ =0,27	$P_{(12)}$ =0,40
PAI-1 (ng/mL)	6	28,0 $\pm$ 21,2	16,1 $\pm$ 10,2	17,6 $\pm$ 12,3	$P_{(0-6)}$ =0,84	$P_{(0-6)}$ =0,47	$P_{(0-6)}$ =0,81	$P_{(6)}$ =0,32	$P_{(6)}$ =0,62	$P_{(6)}$ =0,58
	12	31,7 $\pm$ 17,9	17,6 $\pm$ 9,9	15,9 $\pm$ 11,8	$P_{(6-12)}$ =0,22 $P_{(0-12)}$ =0,33	$P_{(6-12)}$ =0,11 $P_{(0-12)}$ =0,82	$P_{(6-12)}$ =0,50 $P_{(0-12)}$ =0,82	$P_{(12)}$ =0,08	$P_{(12)}$ =0,11	$P_{(12)}$ =0,86
Dímero D (mg/L) (0-0,28)	6	0,13 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,07	0,15 $\pm$ 0,15	$P_{(0-6)}$ =0,87	$P_{(0-6)}$ =0,54	$P_{(0-6)}$ =0,40	$P_{(6)}$ =0,93	$P_{(6)}$ =0,60	$P_{(6)}$ =0,63
	12	0,14 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,06	$P_{(6-12)}$ =0,67 $P_{(0-12)}$ =0,95	$P_{(6-12)}$ =0,95 $P_{(0-12)}$ =0,31	$P_{(6-12)}$ =0,17 $P_{(0-12)}$ =0,55	$P_{(12)}$ =0,81	$P_{(12)}$ =0,74	$P_{(12)}$ =0,92
Fibrinógeno (g/L) (2-4,5)	6	3,5 $\pm$ 0,3	3,6 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 0,6	$P_{(0-6)}$ =0,62	$P_{(0-6)}$ =0,64	$P_{(0-6)}$ =0,42	$P_{(6)}$ =0,89	$P_{(6)}$ =0,55	$P_{(6)}$ =0,41
	12	3,5 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 0,9	3,5 $\pm$ 0,5	$P_{(6-12)}$ =0,85 $P_{(0-12)}$ =0,49	$P_{(6-12)}$ =0,82 $P_{(0-12)}$ =0,26	$P_{(6-12)}$ =0,23 $P_{(0-12)}$ =0,96	$P_{(12)}$ =0,90	$P_{(12)}$ =0,97	$P_{(12)}$ =0,93
GGT (U/L) (1-24)	6	32 $\pm$ 12	28 $\pm$ 12	31 $\pm$ 11	$P_{(0-6)}$ =0,13	$P_{(0-6)}$ =0,11	$P_{(0-6)}$ =0,93	$P_{(6)}$ =0,94	$P_{(6)}$ =0,66	$P_{(6)}$ =0,55
	12	25 $\pm$ 7	22 $\pm$ 7	29 $\pm$ 12	$P_{(6-12)}$ =0,32 $P_{(0-12)}$ =0,32	$P_{(6-12)}$ =0,06 $P_{(0-12)}$ =0,64	$P_{(6-12)}$ =0,41 $P_{(0-12)}$ =0,40	$P_{(12)}$ =0,58	$P_{(12)}$ =0,43	$P_{(12)}$ =0,13
AST (U/L) (8-30)	6	27 $\pm$ 9	24 $\pm$ 7	28 $\pm$ 13	$P_{(0-6)}$ =0,65	$P_{(0-6)}$ =0,17	$P_{(0-6)}$ =0,07	$P_{(6)}$ =0,46	$P_{(6)}$ =0,84	$P_{(6)}$ =0,29
	12	28 $\pm$ 10	31 $\pm$ 14	34 $\pm$ 14	$P_{(6-12)}$ =0,77 $P_{(0-12)}$ =0,33	$P_{(6-12)}$ =0,06 $P_{(0-12)}$ =0,98	$P_{(6-12)}$ =0,10 $P_{(0-12)}$ =0,36	$P_{(12)}$ =0,73	$P_{(12)}$ =0,40	$P_{(12)}$ =0,57

ALT (U/L) (7-35)	6	50±25	34±21	60±55	$P_{(0-6)}=0,77$	$P_{(0-6)}=0,71$	$P_{(0-6)}=0,72$	$P_{(6)}=0,47$	$P_{(6)}=0,31$	$P_{(6)}=0,24$
	12	49±23	31±14	67±81	$P_{(6-12)}=0,97$ $P_{(0-12)}=0,76$	$P_{(6-12)}=0,65$ $P_{(0-12)}=0,81$	$P_{(6-12)}=0,41$ $P_{(0-12)}=0,89$	$P_{(12)}=0,40$	$P_{(12)}=0,23$	$P_{(12)}=0,10$
ALP (U/L) (70-290)	6	174±26	151±36	172±87	$P_{(0-6)}=0,89$	$P_{(0-6)}=0,14$	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(6)}=0,52$	$P_{(6)}=0,97$	$P_{(6)}=0,45$
	12	154±38	146±20	161±69	$P_{(6-12)}=0,21$ $P_{(0-12)}=0,15$	$P_{(6-12)}=0,63$ $P_{(0-12)}=0,04$	$P_{(6-12)}=0,29$ $P_{(0-12)}=0,02$	$P_{(12)}=0,75$	$P_{(12)}=0,80$	$P_{(12)}=0,48$
CPK (U/L) (26-140)	6	132±85	111±93	153±71	$P_{(0-6)}=0,41$	$P_{(0-6)}=0,24$	$P_{(0-6)}=0,40$	$P_{(6)}=0,22$	$P_{(6)}=0,34$	$P_{(6)}=0,16$
	12	137±91	92±85	140±70	$P_{(6-12)}=0,34$ $P_{(0-12)}=0,37$	$P_{(6-12)}=0,22$ $P_{(0-12)}=0,12$	$P_{(6-12)}=0,38$ $P_{(0-12)}=0,20$	$P_{(12)}=0,10$	$P_{(12)}=0,79$	$P_{(12)}=0,08$
Glucosa (mg/dL)(74-100)	6	145±39	141±62	152±65	$P_{(0-6)}=0,85$	$P_{(0-6)}=0,47$	$P_{(0-6)}=0,95$	$P_{(6)}=0,88$	$P_{(6)}=0,78$	$P_{(6)}=0,64$
	12	140±23	152±65	148±42	$P_{(6-12)}=0,68$ $P_{(0-12)}=0,59$	$P_{(6-12)}=0,33$ $P_{(0-12)}=0,21$	$P_{(6-12)}=0,71$ $P_{(0-12)}=0,97$	$P_{(12)}=0,59$	$P_{(12)}=0,70$	$P_{(12)}=0,87$
HbA1c (%) (6,0-7,0)	6	7,2±0,9	7,2±2,0	7,2±0,8	$P_{(0-6)}=0,19$	$P_{(0-6)}=0,21$	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,84$	$P_{(6)}=0,63$	$P_{(6)}=0,77$
	12	7,4±1,0	7,2±1,2	7,6±1,5	$P_{(6-12)}=0,18$ $P_{(0-12)}=0,06$	$P_{(6-12)}=0,89$ $P_{(0-12)}=0,69$	$P_{(6-12)}=0,12$ $P_{(0-12)}=0,33$	$P_{(12)}=0,78$	$P_{(12)}=0,73$	$P_{(12)}=0,50$
TSH (mU/L) (0,35-5,5)	6	2,2±0,8	1,7±0,8	2,0±0,9	$P_{(0-6)}=0,92$	$P_{(0-6)}=0,72$	$P_{(0-6)}=0,78$	$P_{(6)}=0,19$	$P_{(6)}=0,59$	$P_{(6)}=0,39$
	12	2,1±0,6	1,8±0,9	2,1±1,0	$P_{(6-12)}=0,44$ $P_{(0-12)}=0,32$	$P_{(6-12)}=0,72$ $P_{(0-12)}=0,39$	$P_{(6-12)}=0,61$ $P_{(0-12)}=0,83$	$P_{(12)}=0,47$	$P_{(12)}=0,87$	$P_{(12)}=0,34$
T4 (ng/dL) (0,9-1,77)	6	1,1±0,2	1,3±0,2	1,1±0,2	$P_{(0-6)}=0,10$	$P_{(0-6)}=0,49$	$P_{(0-6)}=0,50$	$P_{(6)}=0,15$	$P_{(6)}=0,96$	$P_{(6)}=0,14$
	12	1,3±0,2	1,3±0,2	1,2±0,2	$P_{(6-12)}=0,09$ $P_{(0-12)}=0,53$	$P_{(6-12)}=0,39$ $P_{(0-12)}=0,72$	$P_{(6-12)}=0,20$ $P_{(0-12)}=0,65$	$P_{(12)}=0,42$	$P_{(12)}=0,69$	$P_{(12)}=0,21$
Creatinina (mg/dL) (0,5-1,1)	6	1,0±0,3	1,0±0,2	1,0±0,2	$P_{(0-6)}=0,09$	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,86$	$P_{(6)}=0,88$	$P_{(6)}=0,49$	$P_{(6)}=0,55$
	12	1,1±0,4	1,1±0,3	1,0±0,2	$P_{(6-12)}=0,80$ $P_{(0-12)}=0,76$	$P_{(6-12)}=0,06$ $P_{(0-12)}=0,12$	$P_{(6-12)}=0,61$ $P_{(0-12)}=0,32$	$P_{(12)}=0,96$	$P_{(12)}=0,27$	$P_{(12)}=0,25$
Urato (mg/dL) (2,6-6,1)	6	6,5±1,0	5,8±1,3	5,9±1,5	$P_{(0-6)}=0,78$	$P_{(0-6)}=0,35$	$P_{(0-6)}=0,48$	$P_{(6)}=0,27$	$P_{(6)}=0,35$	$P_{(6)}=0,86$
	12	6,7±1,4	6,0±1,4	6,2±1,4	$P_{(6-12)}=0,55$ $P_{(0-12)}=0,82$	$P_{(6-12)}=0,48$ $P_{(0-12)}=0,22$	$P_{(6-12)}=0,39$ $P_{(0-12)}=0,34$	$P_{(12)}=0,28$	$P_{(12)}=0,38$	$P_{(12)}=0,78$
Albúmina (g/L) (34-48)	6	45±3	45±4	44±3	$P_{(0-6)}=0,89$	$P_{(0-6)}=0,86$	$P_{(0-6)}=0,53$	$P_{(6)}=0,87$	$P_{(6)}=0,35$	$P_{(6)}=0,40$
	12	48±3	46±2	46±2	$P_{(6-12)}=0,58$ $P_{(0-12)}=0,73$	$P_{(6-12)}=0,42$ $P_{(0-12)}=0,17$	$P_{(6-12)}=0,41$ $P_{(0-12)}=0,59$	$P_{(12)}=0,16$	$P_{(12)}=0,12$	$P_{(12)}=0,49$
Hcys (μmol/L)	6	5,5±1,8	6,8±2,1	6,9±2,6	$P_{(0-6)}=0,29$	$P_{(0-6)}=0,12$	$P_{(0-6)}=0,31$	$P_{(6)}=0,18$	$P_{(6)}=0,15$	$P_{(6)}=0,91$
	12	6,3±2,5	7,2±2,2	6,7±2,4	$P_{(6-12)}=0,10$ $P_{(0-12)}=0,95$	$P_{(6-12)}=0,36$ $P_{(0-12)}=0,19$	$P_{(6-12)}=0,48$ $P_{(0-12)}=0,44$	$P_{(12)}=0,37$	$P_{(12)}=0,70$	$P_{(12)}=0,57$
VSG (mm/1 <sup>ah</sup> ) (1-30)	6	8,4±3,1	10,4±8,4	11,2±8,1	$P_{(0-6)}=1,00$	$P_{(0-6)}=0,67$	$P_{(0-6)}=0,26$	$P_{(6)}=0,56$	$P_{(6)}=0,41$	$P_{(6)}=0,79$
	12	8,5±4,9	10,4±9,5	10,9±8,9	$P_{(6-12)}=0,95$ $P_{(0-12)}=0,96$	$P_{(6-12)}=1,00$ $P_{(0-12)}=0,67$	$P_{(6-12)}=0,31$ $P_{(0-12)}=0,87$	$P_{(12)}=0,63$	$P_{(12)}=0,54$	$P_{(12)}=0,88$
Hematocrito (dL/L) (37,5-47,0)	6	42,4±2,6	41,9±4,6	41,4±4,4	$P_{(0-6)}=0,36$	$P_{(0-6)}=0,86$	$P_{(0-6)}=0,07$	$P_{(6)}=0,77$	$P_{(6)}=0,56$	$P_{(6)}=0,75$
	12	42,6±1,6	42,7±2,5	43,0±3,3	$P_{(6-12)}=0,88$ $P_{(0-12)}=0,24$	$P_{(6-12)}=0,38$ $P_{(0-12)}=0,26$	$P_{(6-12)}=0,08$ $P_{(0-12)}=0,88$	$P_{(12)}=0,92$	$P_{(12)}=0,74$	$P_{(12)}=0,79$

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**Tabla 6.2 (cont.).** Cambios en variables relacionadas con la función renal, tiroidea y hepática, hematológica y otras en pacientes diabéticos e hipertensos (n=35), con EAC estable y tratados de acuerdo con guías actualmente aceptadas para la prevención secundaria de ECV, a los 6 y 12 meses de ensayo.

Variable	Meses	Valores determinados			Comparación intra-grupos			Comparación inter-grupos		
		Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo vs GE	Placebo vs GE-RES	GE vs GE-RES
Leucocitos (x10 <sup>9</sup> /L) (4,4-10,6)	6	8,8±0,2	7,4±0,1	8,2±0,2	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,88	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,56	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,12	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,49	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,30
	12	8,7±2,6	7,7±0,2	8,4±0,2	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,88 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,98	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,40 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,86	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,57 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,86	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,28	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,40
Linfocitos (x10 <sup>9</sup> /L) (0,95-4,8)	6	2,3±0,5	2,1±0,4	2,4±0,7	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,64	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,88	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,43	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,56	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,63	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,22
	12	2,4±0,8	2,1±0,7	2,3±0,6	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,42 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,63	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =1,00 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,85	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,53 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,85	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,37	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,84	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,42
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L) (140-400)	6	187±33	187±39	191±44	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,14	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,08	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,86	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,98	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,80	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,79
	12	181±33	176±36	186±56	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,58 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,06	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,18 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> = <b>0,00↓12%</b>	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,54 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,39	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,80	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,79	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,56
Hemoglobina (g/dL) (12-15,6)	6	14,6±0,9	14,1±1,3	14,1±1,6	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,19	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,74	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,14	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,49	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,49	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =1,00
	12	14,7±0,6	14,5±0,9	14,9±0,8	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,72 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,06	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,21 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,10	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> = <b>0,02↑5%</b> <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,47	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,61	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,63	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,27
VCM (fL) (81-98)	6	92,1±2,2	89,6±3,3	92,3±6,6	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,55	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,60	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,16	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,26	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,95	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,17
	12	93,5±1,6	91,8±3,7	93,6±5,3	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,07 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,23	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> = <b>0,00↑2%</b> <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> = <b>0,00↑3%</b>	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> = <b>0,02↑1%</b> <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> = <b>0,00↑2%</b>	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,52	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,96	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,42
Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L) (1,85-7,90)	6	5,2±1,5	4,1±1,1	4,6±1,4	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,82	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,28	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,28	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,06	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,27	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,35
	12	4,8±1,3	4,3±0,9	4,9±1,5	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,24 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,39	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,29 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,84	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,21 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,98	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,39	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,95	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,29
Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> /L) (0,0-0,7)	6	0,2±0,1	0,2±0,1	0,3±0,2	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,38	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(0-6)</sub> =0,73	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,78	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,47	<i>P</i> <sub>(6)</sub> =0,25
	12	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,76 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,74	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,81 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =1,00	<i>P</i> <sub>(6-12)</sub> =0,24 <i>P</i> <sub>(0-12)</sub> =0,30	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,47	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,90	<i>P</i> <sub>(12)</sub> =0,50

Los valores se expresan como media±DE. También se muestra el rango de valores normales para diversas variables cuando está establecido en el hospital. Los voluntarios consumieron 1 cápsula diaria hasta los 6 meses y 2 cápsulas de 6 hasta 12 meses. ALP, fosfatasa alcalina; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; cHDL, colesterol HDL; cLDL, colesterol LDL; CPK, creatina fosfoquinasa; FC, frecuencia cardiaca; GE, extracto de uva convencional; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; GGT,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa; HbA1c, hemoglobina glicada; Hcys, homocisteína; HDL, lipoproteínas de alta densidad; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; IMC, índice de masa corporal; LDL, lipoproteínas de baja densidad; No-cHDL, colesterol sin incluir la porción correspondiente a las lipoproteínas de alta densidad; PAI-1, inhibidor del activador de plasminógeno 1; PSS, presión sanguínea sistólica; PSD, presión sanguínea diastólica; sVCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares soluble 1; T4, tiroxina; Tcol, colesterol total; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; TSH, tirotropina; VCM, volumen corpuscular medio; VSG, velocidad de eritrosedimentación. Las flechas señalan el % de aumento/disminución respecto a los valores de referencia (valor inicial para 0-6 y 0-12, y valor a los 6 meses para 6-12). Las diferencias significativas (*P*<0,05) están en negra.

En este grupo de pacientes diabéticos hipertensos, no se detectaron reducciones en la presión arterial, lípidos séricos, glucosa o HbA1c tras el consumo de GE o GE-RES (**Tabla 6.2**). Se observó una reducción moderada de la fosfatasa alcalina (ALP) sérica al final del estudio en los tres grupos, pero sólo de forma estadísticamente significativa en los grupos que consumieron GE-RES (13%) o GE (16%). En cuanto a los marcadores inflamatorios, los resultados más significativos se encontraron para la IL-6, la cual se redujo significativamente en los voluntarios que consumieron GE-RES (13%). En el grupo placebo se encontró una disminución significativa en los niveles de adiponectina y de IL-10, que se reflejó en un aumento significativo en el cociente de IL-6/IL-10.

### **6.3.2. Efecto del consumo de GE o GE-RES en el perfil de expresión génica de las PBMC**

#### **6.3.2.1. Modulación de procesos inflamatorios, mediado por la regulación de citoquinas**

Se analizaron y compararon los resultados de microarrays entre los grupos placebo, GE y GE-RES después de 6 y 12 meses de consumo. En este análisis nos centramos en determinar específicamente los genes y *miR* que fueron alterados significativamente tras 6 y/o 12 meses de intervención en las PBMC de pacientes que consumieron el GE-RES. Se constató que un total de 5.241 genes y 31 *miR* (**Tablas suplementarias 6.1 y 6.2, respectivamente, Anexo 2**) sufrieron cambios significativos en pacientes del grupo GE-RES y no en los grupos placebo o GE. Los cambios más significativos se encontraron a los 12 meses de consumo de GE-RES aunque, en general, los cambios detectados fueron moderados (los cambios de expresión oscilaron normalmente entre -2,0 y 2,0 veces). A continuación, y para identificar algunas de las

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

principales vías de regulación y posibles factores de transcripción involucrados en la respuesta celular al consumo de GE-RES, las sondas detectadas a los 12 meses junto con sus valores de cambio se analizaron mediante la herramienta “*Transcription Factor Analysis* (TFA)” del programa *Ingenuity Pathway Analysis* (IPA). Este análisis nos permitió predecir de forma significativa, hasta 6 factores de transcripción clave en la regulación de los procesos inflamatorios y que podrían estar activados o desactivados en el grupo de individuos que consumieron el GE-RES: factor de tipo *Kruppel 2* (KLF2), factor nuclear kappa-B (NF- $\kappa$ B), complejo Ap-1 (proteína activadora 1), proto-oncogen c-JUN (JUN), factor de transcripción activador 2 (ATF-2) y proteína de unión al elemento de unión al adenosín monofosfato cíclico (CREBBP) (**Tabla 6.3**).

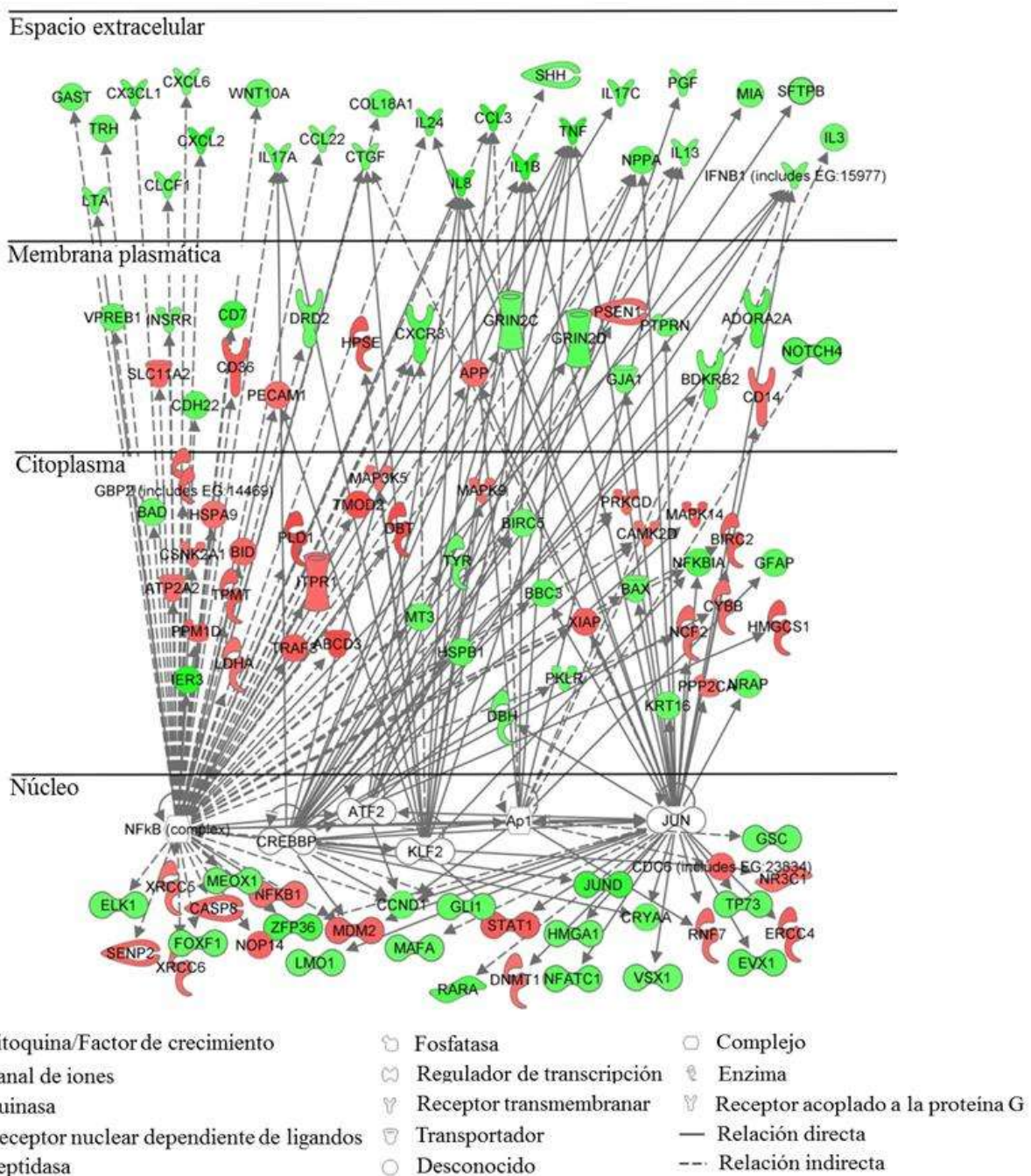
Teniendo en cuenta resultados previos y las funciones inmunoregulatoras de estos factores de transcripción, nuestros resultados sugieren una inhibición general de la respuesta inflamatoria mediada por AP-1 y posiblemente por NF- $\kappa$ B en las células linfocitarias circulantes tras el consumo de GE-RES. La herramienta de análisis funcional IPA también permite combinar los genes modulados y los factores de transcripción seleccionados para crear un diagrama representativo de la localización celular de todas estas moléculas así como de las interacciones descritas entre ellas y que se presentan en la **Figura 6.1**. Este diagrama de interacción molecular puso claramente de manifiesto la represión generalizada de la expresión de varios genes que codifican a un grupo de proteínas secretadas al espacio extracelular y cuyas funciones específicas relacionadas con la respuesta inflamatoria se detallan en la **Tabla 6.4**.

**Tabla 6.3.** Predicción del estado de activación de factores de transcripción relacionados con inflamación de genes expresados diferencialmente en PBMC de pacientes hipertensos con diabetes tipo 2 y EAC, tras el consumo de GE-RES durante 12 meses.\*

Factor de transcripción y función	Predicción (puntuación z)	Referencias
KLF2 Regulador negativo de la activación de monocitos pro-inflamatorios. Su efecto es mediado a través de la inhibición de las rutas de los factores de transcripción NF-κB y AP-1. La activación de KLF2 induce fuertemente la expresión de trombomodulina y de eNOS y reduce la expresión de PAI-1.	Activado (2,55)	Lin <i>et al.</i> , 2005
Ap-1 Junto con el NF-κB es un importante regulador de inflamación. Las acciones coordinadas de NF-κB y AP-1 propagarán la inflamación mediante la promoción de la transcripción de otros genes pro-inflamatorios, citoquinas y quimioquinas.	Inhibido (-3,42)	Foletta <i>et al.</i> , 1998
JUN Componente del factor de transcripción heterodimérico AP-1; desempeña un papel importante en la regulación del crecimiento celular, apoptosis, diferenciación y transformación.	Inhibido (-2,70)	Foletta <i>et al.</i> , 1998
ATF-2 Componente de AP-1; regula la transcripción de genes implicados en la respuesta al estrés, crecimiento y diferenciación celular, y respuesta inmune.	Inhibido(-2,66)	Foletta <i>et al.</i> , 1998
CREBBP Co-activador esencial para receptores nucleares y varias otras clases de factores de transcripción regulados como NF-κB y AP-1.	Inhibido (-2,33)	Vo y Goodman, 2011

\*Según el análisis de reguladores de transcripción de *Ingenuity* (TRA). El TRA examina las dianas conocidas de cada factor de transcripción en el conjunto de datos del usuario y compara su expresión en las muestras experimentales en relación con el control con lo esperado según la literatura existente. El TRA define una cantidad (puntuación z) que determina si un factor de transcripción tiene más predicciones activadas significativas que predicciones inhibidas ( $z > 0$ ) o viceversa ( $z < 0$ ), siendo que la significancia expresa que el número de predicciones activadas o inhibidas observadas es improbable relativamente a predicciones escogidas de forma aleatoria (hipótesis nula). En la práctica, el estado de activación previsto sólo se establece cuando la puntuación z es menor que -2 y mayor que 2. Ap-1, proteína activadora 1; ATF-2, factor de transcripción activador 2; CREBBP, proteína de unión al elemento de respuesta al adenosín monofosfato cíclico; eNOS, sintasa de óxido nítrico endotelial; JUN, proto-oncogen c-JUN; KLF2, factor de tipo *Kruppel* 2; NF-κB, factor nuclear kappa B; PAI-1, activador del inhibidor del plasminógeno tipo 1.

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**



**Figura 6.1.** Red de interacción molecular creada usando un subconjunto específico de factores de transcripción y genes relacionados que, según el programa *Ingenuity Pathway Analysis* (IPA), se predijo estarán significativamente modulados únicamente en las PBMC de pacientes incluidos en el grupo GE-RES. Los colores verde y rojo designan reducciones y aumentos en la expresión génica, respectivamente. Los factores de transcripción implicados en la ruta prevista se enumeran en la **Tabla 6.3**. La función de los genes que se corresponden con el espacio extracelular se presenta en la **Tabla 6.4**.



**Tabla 6 4.** Función relacionada con la respuesta inflamatoria de los genes relacionados con los factores de transcripción listados en la Tabla 6.3 y cuyos productos actúan en el espacio extracelular (Figura 6.1).

Gen		
Símbolo	Función	Referencia
<i>IL24</i>	Citoquina implicada en la proliferación y supervivencia celular	Poindexter <i>et al.</i> , 2005
<i>NPPA</i>	Desempeña un papel clave en la homeostasis cardiovascular	Annilo <i>et al.</i> , 2009
<i>CLCF1</i>	Citoquina de la familia IL-6 con capacidad de estimular células B. Induce la IL-1 $\beta$ y la proteína amiloide sérica A	Senaldi <i>et al.</i> , 1999
<i>PGF</i>	Estimula la proliferación y migración de células endoteliales. Induce PAI-1 por rutas AP-1 y JUN. Presente en placas ateroscleróticas inestables	Khurana <i>et al.</i> , 2005
<i>CCL22</i>	Quimioquina que puede desempeñar un papel en el tráfico de linfocitos T activados a sitios inflamatorios	Chang <i>et al.</i> , 1997
<i>CX3CL1</i>	Fractalquina. Quimioquina que promueve las funciones migratorias y adhesivas del leucocito. Se sobre-expresa en angina inestable y promueve la placa inestable	Ikejima <i>et al.</i> , 2010
<i>IL17C</i>	Citoquina que estimula la liberación de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ de la línea celular monocítica THP-1	Li <i>et al.</i> , 2000
<i>IGFBP4</i>	Relacionada con la ruta Wnt/ $\beta$ -catenina en la promoción del cáncer. Estimula la circulación de células humanas hematopoyéticas madre y progenitoras CD34/CD133	Ueno <i>et al.</i> , 2011
<i>GAST</i>	Actúa como un potente factor de crecimiento celular	Rozengurt <i>et al.</i> , 2001
<i>CCL3</i>	Sobre-expresada en el infarto agudo de miocardio y angina inestable con pronóstico pobre. Reclutamiento y activación de leucocitos polimorfonucleares	de Pager <i>et al.</i> , 2008
<i>MIA</i>	Proteína reguladora de crecimiento involucrada en la proliferación celular	Blesch <i>et al.</i> , 1994
<i>WNT10A</i>	Involucrado en la respuesta celular al estímulo del factor de crecimiento transformante $\beta$	Zhou S, <i>et al.</i> , 2004
<i>SFTP B</i>	Los niveles circulantes de SFTP B están elevados en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica	De Pasquale <i>et al.</i> , 2004
<i>IL-1<math>\beta</math></i>	Citoquina implicada en apoptosis, diferenciación y proliferación celular. Importante mediador de la respuesta inflamatoria	March <i>et al.</i> , 1985
<i>COL18A1</i>	Precursor de la endostatina, una proteína anti-angiogénica potente que conduce a crecientes interacciones entre leucocitos y las paredes de los vasos. Niveles más altos en diabéticos con enfermedad arterial coronaria	Sodha <i>et al.</i> , 2009
<i>TRH</i>	Entre otras funciones, la evidencia apoya un papel crítico en la respuesta inmune dependiente de células T	Kamath <i>et al.</i> , 2009
<i>IL-8</i>	Citoquina quimiotáctica que es también un factor angiogénico potente. Importante mediador de la respuesta inflamatoria	Hebert <i>et al.</i> , 1993
<i>CXCL6</i>	Quimioquina quimiotáctica de granulocitos neutrofilicos	Proost P, <i>et al.</i> , 1993
<i>CXCL2</i>	Quimioquina quimiotáctica para leucocitos polimorfonucleares y células madre hematopoyéticas	Wolpe <i>et al.</i> , 1989
<i>IL3</i>	Citoquina que podría estimular la formación de colonias de granulocitos, eosinófilos, macrófagos, mastocitos, entre otros	Metcalf <i>et al.</i> , 1987
<i>IL13</i>	Citoquina con un potente papel inmunoregulador	Hershey, 2003
<i>TNF</i>	Citoquina implicada en la regulación de varios procesos biológicos incluyendo apoptosis, diferenciación y proliferación celular	Bradley, 2008
<i>IL17A</i>	Citoquina que modula el tráfico de células inmunes y puede contribuir a la aterosclerosis y a la inestabilidad de la placa	Erbel <i>et al.</i> , 2011
<i>CTGF</i>	Factor de crecimiento que puede promover la supervivencia, migración, adhesión y crecimiento de las células endoteliales	Brigstock, 2002
<i>SHH</i>	Potente quimiotáctico para monocitos. Implicado en la inflamación mediante NF- $\kappa$ B. Promueve la proliferación de células de músculo liso vasculares.	Lowrey <i>et al.</i> , 2002
<i>IFNB1</i>	Los IFN de tipo I, entre otros efectos, activan macrófagos y células <i>natural killer</i> , y promueven la supervivencia de células T	Theofilopoulos <i>et al.</i> , 2005
<i>LTA</i>	Citoquina que interviene en una gran variedad de respuestas inflamatorias, inmuno-estimulantes y antivirales	Nedwin <i>et al.</i> , 1985

\*Valor de *P* ajustado < 0,05; NC, no cambio aplicando restricción para cambios del número de veces > -1,2. CCL, quimioquina (motivo C-C) ligando; CLCF, factor de citoquina semejante a cardiotropina; CXCL, quimioquina (motivo C-X-C) ligando; CX3CL, quimioquina (motivo C-X3-C) ligando; COL18A1, colágeno de tipo XVIII, alfa 1; CTGF, factor de crecimiento de tejido conectivo; GAST, gastrina; GE, extracto de uva convencional; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; IFNB1, interferón, beta 1, fibroblasto; IGFBP, proteína de unión al factor de crecimiento semejante a insulina; IL, interleuquina; LTA, linfotóxina alfa (miembro de la superfamilia TNF); MIA, actividad inhibitoria de melanoma; NPPA, péptido natriurético A; PGA, factor de crecimiento placentar; SHH, *Sonic hedgehog*; SPB, proteína surfactante B; TNF, factor de necrosis tumoral; TRH, hormona liberadora de tirotrópina; WNT, miembro de la familia de los sitios de integración MMTV de tipo *Wingless*.

En general, estos análisis indican que tras el consumo continuado del GE-RES las células linfocitarias circulantes parecen estar de algún modo respondiendo y que esta respuesta se traduce en la modulación de procesos como la migración y tráfico de células del sistema inmune, proliferación y crecimiento celular, señalización intercelular y respuesta inflamatoria aunque en este punto resulta difícil predecir si lo que está ocurriendo es una activación celular y aumento de la respuesta inflamatoria.

Para profundizar en el estudio e intentar establecer algunos de los posibles mecanismos específicos de respuesta puestos en marcha en estas células decidimos realizar un segundo análisis funcional con el programa IPA pero centrándonos sólo en un número más restringido de aquellas moléculas con cambios más significativos. Para ello se decidió usar un criterio de análisis más restrictivo y seleccionar únicamente aquellas moléculas (genes/*miR*) con cambios  $>1,5$  o  $<-1,5$  (valores ajustados de  $P<0,05$ ). Este aspecto es importante en este tipo de estudios donde se investiga el efecto en humanos de dosis muy bajas de un extracto derivado de plantas y donde se producen por lo general cambios muy moderados. Como en humanos además la variabilidad inter-individual es muy alta, se incrementa la probabilidad de encontrar falsos positivos y por tanto con criterios más estrictos se consigue reducir el número de resultados falsos. Este nuevo análisis confirmó un efecto significativo en los procesos inflamatorios, mediado por la regulación de citoquinas (**Tabla 6.5**). En general, este segundo análisis confirmó la bajada en la transcripción de mediadores pro-inflamatorios claves, como *CCL3*, *IL-8*, *TNF- $\alpha$*  e *IL-1 $\beta$* , concomitante con la inhibición de la regulación transcripcional mediada por NF- $\kappa$ B. También se detectó un aumento en la transcripción de genes como el *LRRFIP-1*, un represor transcripcional que regula la señalización de receptores de tipo *Toll*, involucrados en rutas de señalización que culminan con la producción de citoquinas como el TNF- $\alpha$ .

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**Tabla 6.5.** Resumen del análisis funcional realizado con el programa IPA en los genes y microARN (miR) con cambios de expresión más significativos en PBMC de voluntarios que consumieron extracto de uva enriquecido en resveratrol (GE-RES).

Resultados del IPA	Genes modulados más significativamente en PBMC, tras el consumo de GE-RES durante 12 meses (criterio de restricción: solamente valores de cambio en los niveles de expresión <-1,5 y >1,5; valores ajustados de $P < 0,05$ )
<i>Funciones biológicas principales</i> Enfermedades	Respuesta inflamatoria, enfermedad cardiovascular, enfermedad inflamatoria
Funciones moleculares y celulares	Movimiento celular, apoptosis, señalización e interacción célula-célula
Función y desarrollo del sistema fisiológico	Función y desarrollo del sistema hematológico, tráfico de células inmunes, función y desarrollo del sistema cardiovascular
<i>Rutas canónicas principales</i>	Regulación diferencial de la producción de citoquinas en macrófagos y células T ayudantes por IL-17A e IL-17F
<i>Principales genes y miR con una bajada en sus niveles de expresión</i> (entre paréntesis se presenta el número de veces de cambio de los niveles de expresión según análisis mediante <i>microarrays</i> )	<u>Citoquinas involucradas en la respuesta inflamatoria:</u> <i>CCL3</i> (-5,93) <sup>a</sup> <i>TNF-<math>\alpha</math></i> (-4,13) <i>IL-8</i> (-3,503) <i>IL-1<math>\beta</math></i> (-3,46) <i>CXCL2</i> (-2,29) <u>miR con un papel en inflamación:</u> <i>miR-155</i> (-1,75) <i>miR-34a</i> (-1,26) <i>EIF4B</i> (-2,68) <i>RNASEK</i> (-2,48) <i>BRK1</i> (-2,48) <i>CI4orf43</i> (-2,38) <i>IER3</i> (-2,11)
<i>Principales genes y miR con una subida en sus niveles de expresión</i> (entre paréntesis se presenta el número de veces de cambio de los niveles de expresión según análisis mediante <i>microarrays</i> )	<u>miR con un papel en inflamación:</u> <i>miR-21</i> (+ 2,24) <i>miR-181</i> (+ 2,14) <i>miR-186</i> (+ 1,91) <i>LRRFIP-1</i> (+ 1,85) <i>IFI44</i> (+ 1,79) <i>MT-ND6</i> (+ 2,11) <u>Procesamiento de RNA:</u> <i>LUC7L3</i> (+ 1,86) <i>RNPC3</i> (+ 1,80) <i>SNRPA1</i> (+ 1,79)
<i>Principales factores transcripcionales implicados en la regulación de los cambios anteriores</i>	Complejo NF- $\kappa$ B (estado de activación predicho: inhibido)
<i>Moléculas diana</i> (genes con el sentido de cambio consistente con la inhibición del complejo NF- $\kappa$ B)	<i>CCL3</i> , <i>TNF-<math>\alpha</math></i> , <i>IL-1<math>\beta</math></i> , <i>IL-8</i> , <i>CXCL2</i> , <i>IER3</i> , <i>ZFP36</i> (en todos se verificó una bajada en su expresión)

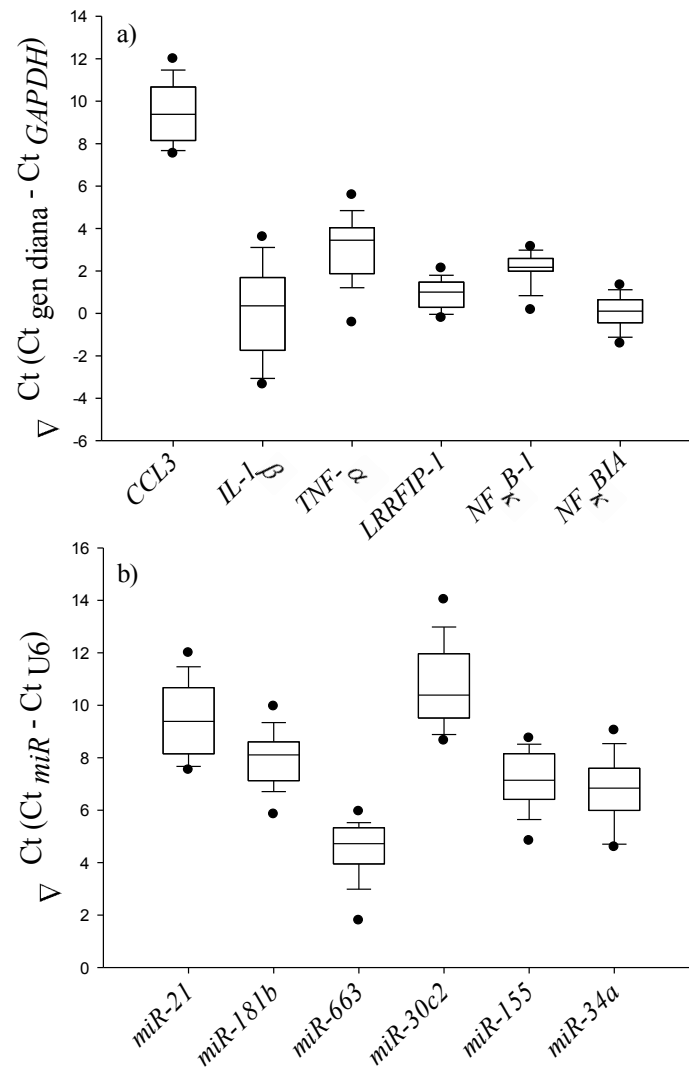
<sup>a</sup>Valor del cambio en el número de veces de la expresión, + subida; - bajada. PBMC, células mononucleares de la sangre periférica.

Este análisis también nos permitió destacar la modulación de los niveles de diversos *miR* específicamente involucrados en la regulación de la respuesta inmune. En concreto, observamos que la transcripción de los *miR-21* y *miR-181*, con papeles reguladores en la inflamación y señalización de NF- $\kappa$ B se vio activada mientras que para los *miR-155* y *miR-34a* se observó una disminución en la transcripción.

### **6.3.2.2. Validación por RT-PCR de cambios en la expresión de genes diana y miR seleccionados**

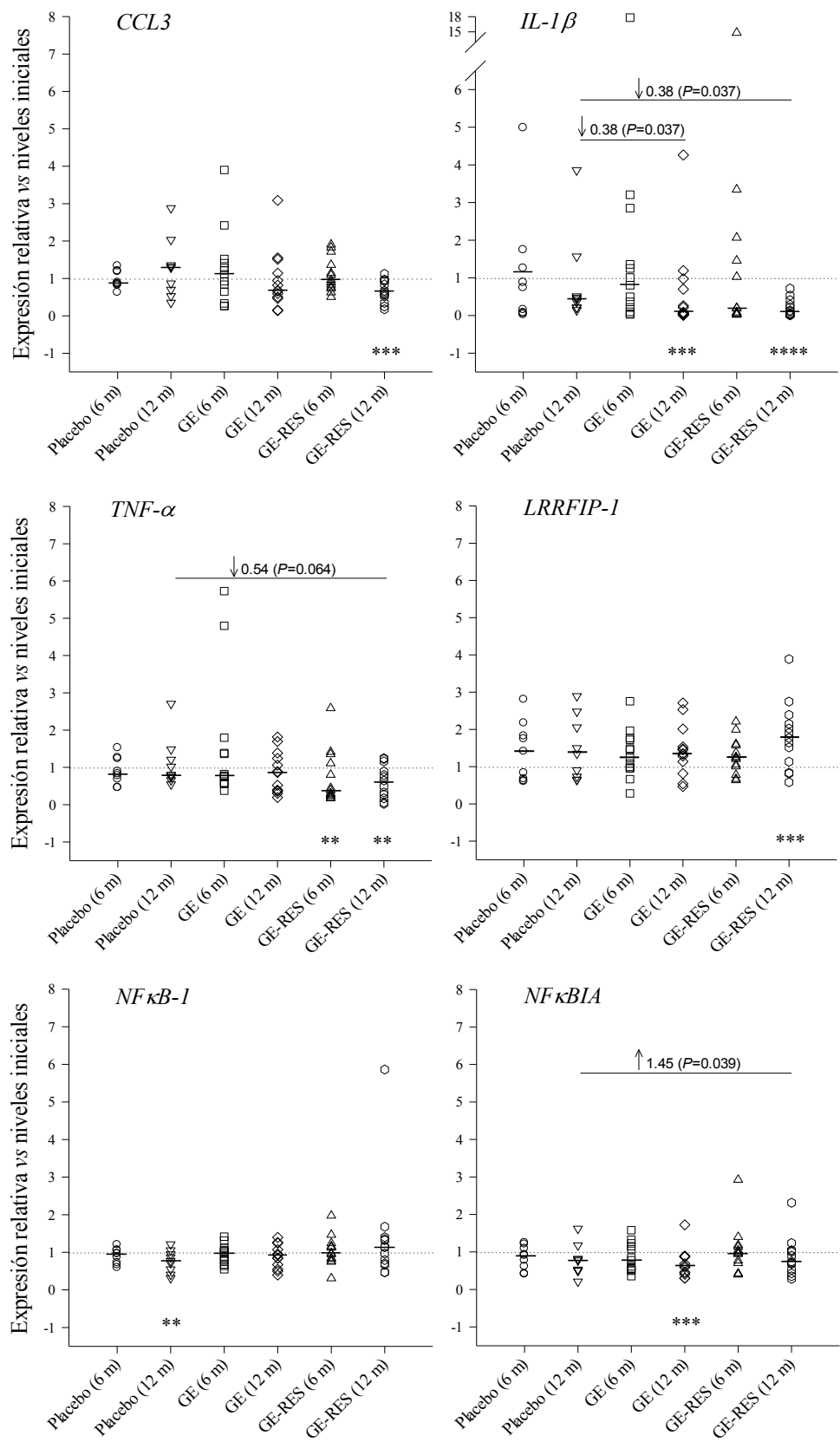
Se seleccionaron para validación mediante RT-PCR: i) tres citoquinas clave involucradas en la respuesta inflamatoria: *CCL3*, *IL-1 $\beta$*  y *TNF- $\alpha$* ; ii) dos reguladores transcripcionales importantes, el *LRRFIP-1* y el complejo NF $\kappa$ B, más concretamente, la unidad *NF $\kappa$ B-1* (p105, precursor de la subunidad p50) y *NF $\kappa$ BIA* (un inhibidor de NF $\kappa$ B) y iii) varios *miR* implicados en procesos inflamatorios. Los valores de  $\Delta$ Ct correspondientes a los genes y *miR* analizados se presentan en la **Figura 6.2**.

Estos datos indican que el orden cuantitativo de los niveles de expresión de los genes es el siguiente: *NF $\kappa$ BIA*  $\approx$  *IL-1 $\beta$*  > *LRRFIP-1* > *NF $\kappa$ B-1* > *TNF- $\alpha$*  > *CCL3*. La distribución de los datos indica que la variabilidad fue ligeramente mayor para las citoquinas *IL-1 $\beta$*  (coeficiente de variación, CV=7,9%) y *TNF- $\alpha$*  (CV=5,6%) que para el *CCL3* y factores de transcripción (CV=3,2–3,6%) (**Figura 6.2a**). El *miR* que exhibió el mayor nivel de expresión en PBMC fue el *miR-663* mientras que los *miR-21* y *miR-30c2* presentaron los niveles más bajos. En el caso de los *miR*, los CV oscilaron entre el 4,0% para el *miR-663* y el 7,0% para el *miR-21* (**Figura 6.2b**).



**Figura 6.2.** Niveles transcripcionales relativos de los genes diana (a) y *miR* (b) seleccionados para validación por RT-PCR. Los datos se presentan como  $\Delta$ Ct (Ct<sub>gen diana</sub> - Ct<sub>GAPDH</sub>) o (Ct<sub>miR</sub> - Ct<sub>U6</sub>).

Los resultados en los cambios de expresión génica intra-grupo se presentan en la **Figura 6.3** y en la **Tabla 6.6**. En general, se confirma que los cambios más significativos se producen después de 12 meses de intervención, sobre todo, en el grupo GE-RES. En este grupo se confirmó que los niveles de transcripción de *TNF- $\alpha$* , *IL-1 $\beta$*  y *CCL3* fueron significativamente más reducidos y los de *LRRFIP-1* aumentados, y que la expresión de *IL-1 $\beta$*  también disminuyó significativamente en el grupo GE al año de intervención.



**Figura 6.3.** Cambios en la expresión de genes diana seleccionados e involucrados en la regulación de la respuesta inflamatoria y diabetes de tipo 2 (T2DM) en PBMC. Los datos se presentan como el cambio a los 6 o 12 meses respecto a los niveles iniciales. Los cambios significativos intra-grupo se encuentran marcados con asteriscos: \*\*,  $P < 0,05$ ; \*\*\*,  $P < 0,01$ ; \*\*\*\*,  $P < 0,001$ . Los cambios inter-grupo significativos a los 12 meses de intervención también están indicados (cambio en el número de veces y valor de  $P$ ); ↑ aumento o ↓ disminución en la expresión respecto al grupo placebo; GE; extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol.

***Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria***

**Tabla 6.6.** Cambios en la expresión relativa intra-grupo de genes seleccionados implicados en la regulación de la respuesta inflamatoria y T2DM en PBMC.

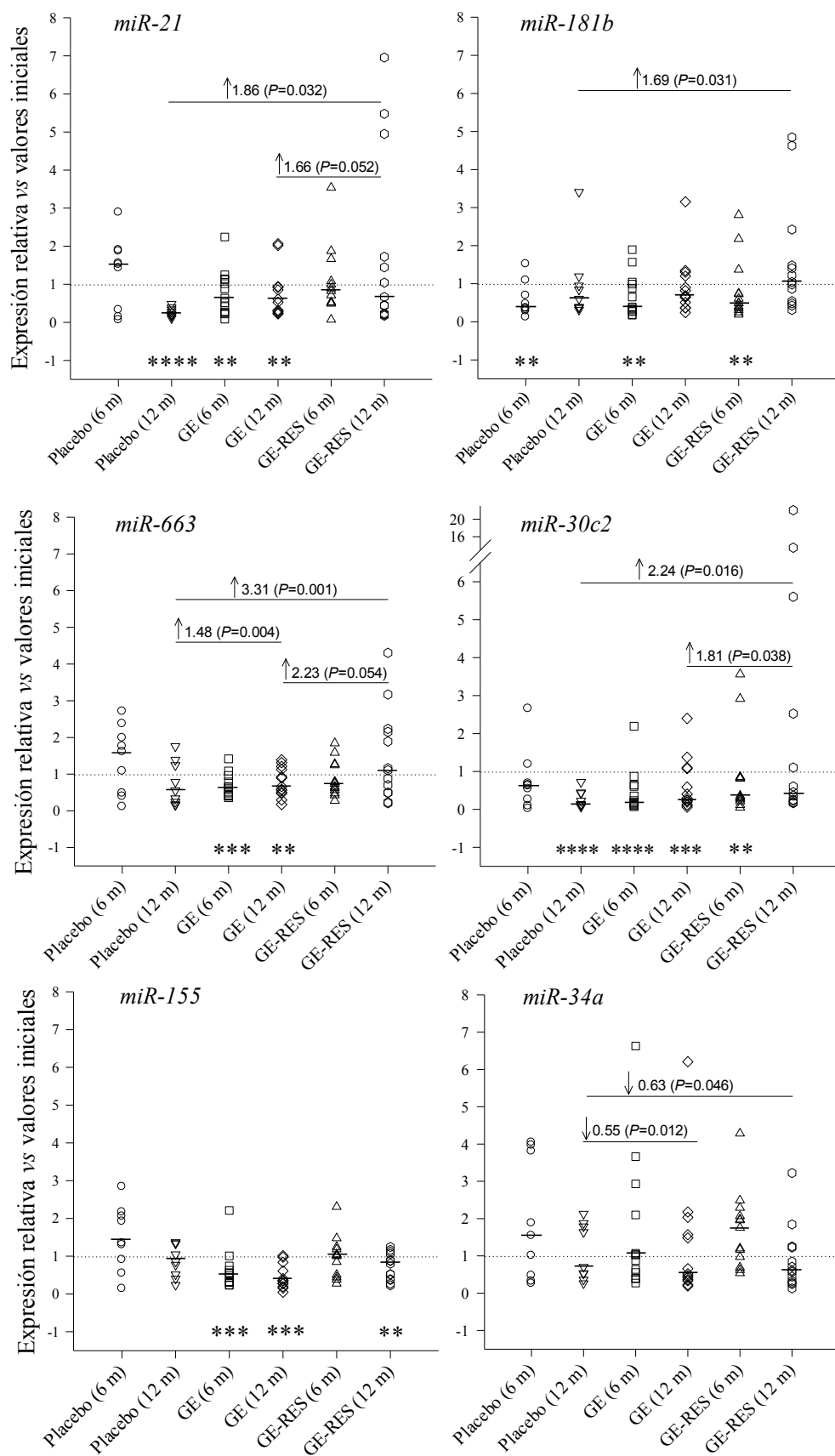
Gen	Función biológica	Cambio intra-grupo en la expresión génica (cociente)								
		Placebo (n=9)			GE (n=13)			GE-RES (n=13)		
		6 meses vs. inicio	12 meses vs. inicio	12 meses vs. 6 meses	6 meses vs. inicio	12 meses vs. inicio	12 meses vs. 6 meses	6 meses vs. inicio	12 meses vs. inicio	12 meses vs. 6 meses
<i>CCL3</i>	Implicado en la quimiotaxis de células mononucleares.	0,86 <sup>a</sup> (0,82-1,19) <i>P</i> =0,395	1,02 (0,52-2,22) <i>P</i> =0,835	1,29 (0,61-1,70) <i>P</i> =0,648	1,11 (0,49-1,45) <i>P</i> =0,763	0,58 (0,53-1,08) <i>P</i> =0,154	0,67 (0,48-1,33) <i>P</i> =0,020	0,96 (0,75-1,54) <i>P</i> =0,865	0,61 (0,34-0,92) <i>P</i> =0,004	0,63 (0,43-0,93) <i>P</i> =0,006
<i>IL-1β</i>	Mediador temprano crítico de la inflamación secretada por monocitos y macrófagos. Regula el NF-κB. Niveles elevados en monocitos de pacientes T2DM	0,74 (0,07-1,50) <i>P</i> =0,134	0,43 (0,21-1,04) <i>P</i> =0,070	1,37 (0,33-4,83) <i>P</i> =0,551	0,81 (0,16-2,11) <i>P</i> =0,326	0,09 (0,04-0,84) <i>P</i> =0,003	0,39 (0,08-1,06) <i>P</i> =0,037	0,20 (0,04-2,71) <i>P</i> =0,170	0,08 (0,03-0,31) <i>P</i> =0,000	0,27 (0,06-1,16) <i>P</i> =0,008
<i>TNF-α</i>	Citoquina importante de adipocitos que pueden interferir con la señalización de la insulina. Regula el NF-κB. Niveles elevados en monocitos de pacientes con T2DM	0,83 (0,57-1,25) <i>P</i> =0,239	0,80 (0,70-1,35) <i>P</i> =0,890	1,14 (0,88-1,68) <i>P</i> =0,354	0,78 (0,58-1,59) <i>P</i> =0,775	0,86 (0,37-1,31) <i>P</i> =0,083	0,62 (0,35-1,08) <i>P</i> =0,024	0,39 (0,25-1,23) <i>P</i> =0,016	0,65 (0,22-1,02) <i>P</i> =0,019	0,71 (0,38-2,13) <i>P</i> =0,435
<i>LRRFIP-1</i>	Regulador transcripcional de la señalización de receptores tipo <i>Toll</i>	1,41 (0,65-2,00) <i>P</i> =0,358	1,35 (0,69-2,27) <i>P</i> =0,261	1,03 (0,96-1,14) <i>P</i> =0,277	1,24 (0,96-1,74) <i>P</i> =0,326	1,35 (0,97-1,77) <i>P</i> =0,116	1,08 (0,72-1,47) <i>P</i> =0,585	1,23 (0,89-1,59) <i>P</i> =0,125	1,77 (0,98-2,27) <i>P</i> =0,009	1,24 (1,16-1,62) <i>P</i> =0,002
<i>NFκB-1</i>	Regulador principal de la transcripción en la respuesta inflamatoria. Modula la expresión de citoquinas como TNF-α e IL-1β	0,96 (0,70-1,06) <i>P</i> =0,137	0,77 (0,48-1,01) <i>P</i> =0,045	0,74 (0,52-1,30) <i>P</i> =0,245	0,96 (0,73-1,09) <i>P</i> =0,249	0,92 (0,61-1,16) <i>P</i> =0,122	0,83 (0,74-1,31) <i>P</i> =0,428	0,98 (0,80-1,20) <i>P</i> =0,769	1,14 (0,69-1,38) <i>P</i> =0,698	1,09 (0,94-1,37) <i>P</i> =0,355
<i>NFκBIA</i>	Inhibidor de complejos diméricos NF-κB/REL. Se degrada tras estimulación celular y permite que el RELA dimérico se traslade al núcleo	0,90 (0,52-1,2) <i>P</i> =0,124	0,77 (0,51-1,00) <i>P</i> =0,075	1,18 (0,65-1,30) <i>P</i> =0,508	0,78 (0,54-1,19) <i>P</i> =0,069	0,63 (0,43-0,88) <i>P</i> =0,005	0,77 (0,53-1,21) <i>P</i> =0,102	0,97 (0,56-1,16) <i>P</i> =0,431	0,74 (0,48-1,04) <i>P</i> =0,087	0,88 (0,68-1,01) <i>P</i> =0,132

<sup>a</sup>:Resultados presentados como mediana (rango inter-cuartil 25 - 75). Se consideró *P*<0,05 como estadísticamente significativo (células sombreadas). CCL, ligando de quimioquina (motivo C-C); IL, interleuquina; GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; LRRFIP-1, proteína interactuante con el dominio de repeticiones rico en leucina C-terminal; NFκB-1, subunidad p105 del factor nuclear kappa B; NFκBIA, inhibidor alfa del factor nuclear kappa B; T2DM, diabetes mellitus de tipo 2; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa.

No detectamos, sin embargo, ningún cambio en los niveles de *NFκB-1* excepto en el grupo placebo, donde se observó una reducción leve pero significativa tras los 12 meses de intervención. El inhibidor *NFκBIA* mostró una tendencia a la disminución en los 3 grupos que resultó significativa solamente en los voluntarios que tomaron GE. Además, se determinaron las diferencias entre grupos al final del estudio (12 meses). Los niveles de ARNm de *IL-1β* y *TNF-α* sufrieron una disminución mayor en el grupo GE-RES que en el grupo placebo, 62% ( $P=0,04$ ) y 46% ( $P=0,06$ ), respectivamente. La *IL-1β* también disminuyó significativamente en el grupo GE respecto al grupo placebo. Los niveles de *CCL3* y *LRRFIP-1* exhibieron una tendencia a disminuir (24%,  $P=0,19$ ) y aumentar (32%,  $P=0,14$ ), respectivamente, en comparación con el grupo placebo. La expresión de *NFκBIA* fue significativamente superior (45%,  $P<0,04$ ) en el grupo GE-RES en comparación con el grupo placebo. En comparación con el grupo placebo, estos resultados parecen apoyar los cambios intra-grupo observados después de 12 meses de intervención, fundamentalmente en el grupo GE-RES, y que están relacionados con la reducción en el estado inflamatorio en las PBMC de estos pacientes.

Respecto a los cambios de expresión de los *miR*, los resultados se presentan en la **Figura 6.4** y en la **Tabla 6.7**. El perfil de cambio fue similar para los *miR-21*, *miR-181b*, *miR-663* y *miR-30c2*. Estas moléculas disminuyeron en los grupos placebo y GE mientras que la tendencia fue ligeramente diferente en el grupo GE-RES, donde los niveles de estos *miR* se mantuvieron constantes o exhibieron una tendencia a aumentar, especialmente a los 12 meses de consumo. La comparación inter-grupos apoyó estos resultados ya que los niveles de *miR-21*, *miR-181b*, *miR-663* y *miR-30c2* resultaron ser significativamente mayores en el grupo GE-RES que en el grupo placebo y también significativamente mayores que en el grupo de GE para los *miR-21*, *miR-663* y *miR-30c2*.





**Figura 6.4.** Cambios en la expresión de *miR* seleccionados e involucrados en la regulación de la respuesta inflamatoria y diabetes de tipo 2 (T2DM), en PBMC. Los datos se presentan como el cambio a los 6 o 12 meses relativamente a los niveles iniciales. Los cambios intra-grupo significativos se encuentran marcados con asteriscos: \*\*,  $P < 0,05$ ; \*\*\*,  $P < 0,01$ ; \*\*\*\*,  $P < 0,001$ . Los cambios inter-grupo significativos a los 12 meses de intervención también están indicados (cambio en el número de veces y valor de  $P$ ); ↑ aumento o ↓ disminución en la expresión respecto al grupo placebo; GE; extracto de uva; GE-RES, extracto de uva enriquecido en resveratrol; *miR*, microARN.

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**Tabla 6.7.** Cambios en la expresión relativa intra-grupo de miR seleccionados implicados en la regulación de la respuesta inflamatoria y T2DM en PBMC.

miR	Función relacionada con inflamación	Cambio intra-grupo en la expresión de miR (cociente)								
		Placebo (n=9)			GE (n=13)			GE-RES (n=13)		
		6 meses vs. inicio	12 meses vs. inicio	12 meses vs. 6 meses	6 meses vs. inicio	12 meses vs. inicio	12 meses vs. 6 meses	6 meses vs. inicio	12 meses vs. inicio	12 meses vs. 6 meses
<i>miR-21</i>	Implicado en la respuesta inflamatoria y regulación de la señalización de NF-κB y de receptores tipo <i>Toll</i> , TNF-α e IL-1β	1,52 <sup>a</sup> (0,24-1,89) <i>P</i> =0,587	0,22 (0,17-0,37) <i>P</i> =0,000	0,15 (0,12-1,98) <i>P</i> =0,051	0,64 (0,26-1,13) <i>P</i> =0,041	0,61 (0,29-0,94) <i>P</i> =0,033	1,07 (0,70-1,95) <i>P</i> =0,736	0,82 (0,52-1,37) <i>P</i> =0,318	0,67 (0,22-3,34) <i>P</i> =0,652	1,27 (0,53-3,11) <i>P</i> =0,721
<i>miR-181b</i>	Implicado en la regulación de la señalización de NF-κB y TNF-α	0,36 (0,30-0,89) <i>P</i> =0,013	0,60 (0,37-1,07) <i>P</i> =0,179	1,37 (1,11-2,02) <i>P</i> =0,004	0,39 (0,28-1,02) <i>P</i> =0,012	0,69 (0,47-1,25) <i>P</i> =0,150	1,36 (0,66-3,21) <i>P</i> =0,128	0,49 (0,34-1,06) <i>P</i> =0,044	1,05 (0,51-1,95) <i>P</i> =0,645	1,71 (1,42-2,66) <i>P</i> =0,000
<i>miR-155</i>	Altamente expresado en monocitos y macrófagos. Implicado en la regulación de la señalización de NF-κB y de receptores tipo <i>Toll</i> , TNF-α e IL-1β	1,35 (0,73-2,11) <i>P</i> =0,709	0,86 (0,46-1,34) <i>P</i> =0,215	0,66 (0,44-1,05) <i>P</i> =0,060	0,48 (0,31-0,68) <i>P</i> =0,002	0,35 (0,23-0,72) <i>P</i> =0,001	0,65 (0,54-1,03) <i>P</i> =0,052	1,01 (0,47-1,21) <i>P</i> =0,325	0,80 (0,38-1,09) <i>P</i> =0,015	0,84 (0,50-1,30) <i>P</i> =0,113
<i>miR-34a</i>	Expresión aumentada en T2DM. Regulador de la función de las células pancreáticas. Implicado en la regulación de la señalización de NF-κB, TNF-α e IL-1β	1,54 (0,40-3,89) <i>P</i> =0,568	0,70 (0,44-1,83) <i>P</i> =0,541	0,56 (0,49-1,23) <i>P</i> =0,130	1,03 (0,48-2,51) <i>P</i> =0,820	0,52 (0,35-1,80) <i>P</i> =0,327	0,75 (0,56-1,39) <i>P</i> =0,127	1,75 (0,83-2,18) <i>P</i> =0,056	0,61 (0,30-1,24) <i>P</i> =0,084	0,59 (0,21-0,88) <i>P</i> =0,004
<i>miR-663</i>	Puede tener como diana los transcritos que codifican para factores, implicados en la respuesta inmune, que activan citoquinas	1,61 (0,44-2,18) <i>P</i> =0,859	0,55 (0,21-1,31) <i>P</i> =0,086	0,46 (0,35-0,76) <i>P</i> =0,021	0,61 (0,42-0,88) <i>P</i> =0,006	0,66 (0,49-1,17) <i>P</i> =0,055	1,42 (0,60-1,84) <i>P</i> =0,753	0,74 (0,52-1,26) <i>P</i> =0,087	1,10 (0,49-2,19) <i>P</i> =0,861	1,15 (0,78-2,60) <i>P</i> =0,221
<i>miR-30c2</i>	Inducido por NF-κB. Asociado a la diabetes	0,62 (0,17-0,94) <i>P</i> =0,088	0,14 (0,11-0,43) <i>P</i> =0,000	0,27 (0,19-2,40) <i>P</i> =0,171	0,18 (0,12-0,63) <i>P</i> =0,000	0,30 (0,15-1,09) <i>P</i> =0,007	1,54 (0,61-2,95) <i>P</i> =0,293	0,36 (0,24-0,85) <i>P</i> =0,043	0,45 (0,21-4,06) <i>P</i> =0,761	1,42 (0,64-6,37) <i>P</i> =0,095

<sup>a</sup>:Resultados presentados como mediana (rango inter-cuartil 25 - 75). Se consideró *P*<0,05 como estadísticamente significativo (células sombreadas). GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; IL, interleuquina; miR, microARN. NF-κB, factor nuclear kappa B; T2DM, diabetes mellitus de tipo 2; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa.

Por otro lado, los niveles de *miR-155* disminuyeron significativamente en el tiempo tras el consumo de GE-RES y GE pero no se encontraron diferencias significativas entre grupos. Los niveles de *miR-34a* no presentaron cambios significativos en el tiempo en ninguno de los 3 grupos pero, al final del estudio, eran significativamente inferiores en los grupos GE-RES y GE en comparación con el grupo placebo. Utilizando la base de datos *miRWalk* (Dweep, *et al.*, 2011) se encontró que *IL-1 $\beta$*  y *NF $\kappa$ B-1* son dianas validadas o presuntas de *miR-21* y *miR-181b* y que *NF $\kappa$ B-1* también es una diana para el *miR-30c2*. Hay que resaltar que *LRRFIP-1* es una presunta diana de *miR-155* y *miR-34a* y que *NF $\kappa$ B1A* es a su vez una diana de *miR-34a* ([www.targetscan.org](http://www.targetscan.org)).

### **6.3.2.3. Proteína TNF- $\alpha$ en las PBMC**

Para determinar si algunos de los cambios transcripcionales observados se traducían en cambios de proteína se midieron los niveles de TNF- $\alpha$  en las PBMC de los 3 grupos de voluntarios. Al inicio del estudio, los valores encontrados fueron:  $0,7 \pm 1,1$  pg de TNF- $\alpha$  por mg de proteína total para el grupo placebo,  $1,4 \pm 1,5$  pg/mg en el grupo GE y  $1,7 \pm 1,6$  pg/mg en el grupo GE-RES. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos. Después de 12 meses de consumo, no se encontraron variaciones significativas en los niveles de proteína ni dentro de cada grupo ni entre grupos (valores finales:  $2,2 \pm 1,9$  pg/mg en el grupo placebo,  $1,2 \pm 1,0$  pg/mg en el grupo GE y  $1,4 \pm 1,0$  pg/mg en el grupo GE-RES).

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

**6.3.2.4. Correlaciones entre miR, genes y marcadores séricos**

En un intento de explorar la posible interacción entre los *miR*, genes diana y algunos de los marcadores séricos investigados se aplicaron análisis de correlación entre ellos. Al inicio del estudio (**Tabla 6.8**), la mayoría de los *miR* investigados en las PBMC exhibía una correlación positiva alta y significativa.

**Tabla 6.8.** Correlaciones significativas, en la inclusión, entre *miR*, genes y marcadores bioquímicos en pacientes hipertensos con EAC estable y T2DM.

<b>Correlaciones (población global (n=35))</b>		
<b><i>miR vs. miR</i></b>		<b>r<sup>a</sup></b>
<i>miR-21</i>	<i>miR-30c2</i>	0,861
<i>miR-181b</i>	<i>miR-30c2</i>	0,748
<i>miR-663</i>	<i>miR-34a</i>	0,715
<i>miR-663</i>	<i>miR-155</i>	0,632
<i>miR-663</i>	<i>miR-181b</i>	0,597
<i>miR-21</i>	<i>miR-34a</i>	0,542
<i>miR-21</i>	<i>miR-663</i>	0,541
<i>miR-181b</i>	<i>miR-155</i>	0,498
<i>miR-21</i>	<i>miR-181b</i>	0,492
<i>miR-663</i>	<i>miR-30c2</i>	0,487
<i>miR-155</i>	<i>miR-30c2</i>	0,456
<i>miR-155</i>	<i>miR-34a</i>	0,425
<i>miR-21</i>	<i>miR-155</i>	0,383
<b><i>gen vs. gen</i></b>		
<i>IL-1β</i>	<i>NFκBIA</i>	0,630
<i>IL-1β</i>	<i>TNF-α</i>	0,534
<i>TNF-α</i>	<i>NFκBIA</i>	0,352
<b><i>gen vs. miR</i></b>		
<i>NFκBIA</i>	<i>miR-30c2</i>	-0,429
<i>NFκBIA</i>	<i>miR-21</i>	-0,391
<i>LRRFIP-1</i>	<i>miR-663</i>	-0,348
<b><i>marcador vs. gen o miR</i></b>		
TNF-α (PBMC)	<i>TNF-α</i>	0,842
TNF-α (PBMC)	<i>IL-1β</i>	0,613
TNF-α (PBMC)	<i>NFκBIA</i>	0,551
Adiponectina	<i>miR-663</i>	0,380
Adiponectina	<i>CCL3</i>	0,351
IL-6	<i>IL-1β</i>	-0,346
IL-10	<i>miR-155</i>	-0,408
TNF-α (suero)	<i>NFκB1</i>	-0,420
IL-10	<i>NFκBIA</i>	-0,451
IL-6	<i>NFκBIA</i>	-0,494

<sup>a</sup>P<0,05. CCL3, ligando de quimioquina 3 (motivo C-C); IL, interleuquina; LRRFIP-1, proteína interactuante con el dominio de repeticiones rico en leucina C-terminal (en FLII); miR, microARN; NFκB-1, subunidad p105 del factor nuclear kappa B; NFκBIA, inhibidor alfa del factor nuclear kappa B; PBMC, células mononucleares de la sangre periférica; T2DM, diabetes mellitus de tipo 2; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa.

Esta correlación fue máxima entre *miR-30c2* y *miR-21* y *miR-181b*, mientras que *miR-663* se correlacionó altamente con *miR-34a*, *miR-155* y *miR-181b*. Entre los genes examinados, *TNF- $\alpha$* , *IL-1 $\beta$*  y *NF $\kappa$ B1A* presentaron una correlación positiva significativa entre ellos. Además, *NF $\kappa$ B1A* también se correlacionó de forma negativa con *miR-30c2* y *miR-21*, y *LRRFIP-1* mostró una correlación negativa con *miR-663*. Los niveles de *TNF- $\alpha$*  en las PBMC presentaron una correlación positiva significativa con los niveles de ARNm de *TNF- $\alpha$* , *IL-1 $\beta$*  y *NF $\kappa$ B1A* pero no con la proteína *TNF- $\alpha$*  sérica, la cual se correlacionó negativamente con *NF $\kappa$ B-1*. Otros marcadores séricos de interés como *IL-6* se correlacionaron negativamente con la expresión de *IL-1 $\beta$*  en las PBMC y adiponectina se correlacionó positivamente con *miR-663* y *CCL3*. No se encontraron correlaciones significativas entre los niveles basales de ALP y ninguno de los genes y *miR* investigados.

También se examinó si las correlaciones entre todos estos pares de variables a los 12 meses de intervención eran semejantes entre los tres grupos del estudio o si ciertos grupos se desviaban de los demás (**Tabla 6.9**). Para ello, se calculó para cada par los valores de correlación para los tres grupos por separado. Después de 12 meses de intervención, se observó que los valores de correlación global fueron, en general, más bajos y menos, o no significativos, en comparación con los niveles basales, indicando un cambio general en la regulación de las moléculas investigadas. Se estimó el grado de correlación diferencial entre los tres grupos calculando la varianza de los valores de correlación por separado (Stähler, *et al.*, 2012) que oscilaron entre 0,001 y 0,406. La varianza más baja se asocia a pares de moléculas que se correlacionan significativamente después del consumo y que presentan valores de correlación

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

similares entre los diferentes grupos. Este fue el caso de algunos *miR*, por ejemplo, los pares *miR-21/miR-181b*, *miR-21/miR-30c2* y *miR-181b/miR-30c2*.

**Tabla 6.9.** Correlaciones entre *miR*, genes y marcadores en pacientes hipertensos con T2DM y EAC estable, tras el consumo de placebo, GE o GE-RES durante 12 meses.

		Correlaciones tras 12 meses de intervención				
<i>miR vs. miR</i>		Global (n=35)	Placebo (n=9)	GE (n=13)	GE-RES (n=13)	Varianza
<i>miR-21</i>	<i>miR-181b</i>	<b>0,641<sup>a</sup></b>	0,622	<b>0,578</b>	<b>0,648</b>	0,001
<i>miR-21</i>	<i>miR-30c2</i>	<b>0,840</b>	<b>0,793</b>	<b>0,768</b>	<b>0,914</b>	0,006
<i>miR-663</i>	<i>miR-155</i>	0,300	0,172	0,345	0,267	0,007
<i>miR-181b</i>	<i>miR-30c2</i>	<b>0,640</b>	<b>0,755</b>	<b>0,588</b>	<b>0,614</b>	0,008
<i>miR-155</i>	<i>miR-30c2</i>	0,131	0,109	0,171	-0,012	0,009
<i>miR-21</i>	<i>miR-663</i>	<b>0,505</b>	0,269	0,346	<b>0,587</b>	0,028
<i>miR-155</i>	<i>miR-34a</i>	0,210	<b>0,693</b>	0,324	0,537	0,034
<i>miR-181b</i>	<i>miR-155</i>	0,218	-0,161	0,153	0,259	0,048
<i>miR-663</i>	<i>miR-30c2</i>	<b>0,510</b>	0,070	0,329	<b>0,560</b>	0,060
<i>miR-21</i>	<i>miR-155</i>	0,191	0,459	0,322	-0,102	0,085
<i>miR-663</i>	<i>miR-181b</i>	<b>0,802</b>	0,304	<b>0,723</b>	<b>0,883</b>	0,090
<i>miR-21</i>	<i>miR-34a</i>	0,062	0,524	0,231	-0,251	0,153
<i>miR-663</i>	<i>miR-34a</i>	-0,228	0,260	0,516	-0,528	0,296
<b>gen vs. gen</b>						
<i>IL-1β</i>	<i>TNF-α</i>	<b>0,548</b>	<b>0,875</b>	0,168	<b>0,623</b>	0,129
<i>TNF-α</i>	<i>NFκBIA</i>	0,143	-0,391	0,265	0,325	0,158
<i>IL-1β</i>	<i>NFκBIA</i>	-0,039	-0,377	-0,443	0,344	0,191
<b>gen vs. miR</b>						
<i>LRRFIP-1</i>	<i>miR-663</i>	0,125	0,443	0,082	-0,286	0,133
<i>NFκBIA</i>	<i>miR-21</i>	0,255	0,617	-0,298	0,133	0,210
<i>NFκBIA</i>	<i>miR-30c2</i>	0,189	<b>0,694</b>	-0,252	0,062	0,232
<b>marcador vs. gen o miR</b>						
TNF-α (suero)	<i>NFκB1</i>	0,018	-0,055	0,003	0,180	0,015
ALP	<i>TNF-α</i>	<b>-0,348</b>	-0,221	-0,341	-0,485	0,017
TNF-α (suero)	<i>IL-1β</i>	<b>0,523</b>	0,492	0,291	<b>0,694</b>	0,041
TNF-α (PBMC)	<i>NFκBIA</i>	-0,303	-0,832	-0,357	-0,250	0,096
IL-6	<i>NFκBIA</i>	-0,185	0,228	-0,333	-0,309	0,101
Adiponectina	<i>CCL3</i>	0,331	<b>0,694</b>	0,486	0,031	0,115
TNF-α (PBMC)	<i>TNF-α</i>	0,196	-0,514	0,071	<b>0,667</b>	0,152
IL-6	<i>IL-1β</i>	-0,146	-0,418	0,363	-0,526	0,235
TNF-α (PBMC)	<i>IL-1β</i>	0,112	-0,654	-0,036	0,604	0,396
Adiponectina	<i>miR-663</i>	0,268	-0,65	-0,022	<b>0,624</b>	0,406

<sup>a</sup>Valores de r. Las correlaciones significativas ( $P < 0,05$ ) están en negrita. CCL3, ligando de quimioquina (motivo C-C) 3; GE, extracto de uva; GE-RES, GE enriquecido en resveratrol; IL, interleuquina; LRRFIP-1, proteína interactuante con el dominio de repeticiones rico en leucina C-terminal (en FLII); *miR*, microARN; NFκB-1, subunidad p105 del factor nuclear kappa B; NFκBIA, inhibidor alfa del factor nuclear kappa B; PBMC, células mononucleares de la sangre periférica; T2DM, diabetes mellitus de tipo 2; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa.

A medida que la varianza aumenta, las diferencias en los valores de correlación entre los grupos se vuelven mayores, lo que sugiere un efecto del consumo en la correlación entre las moléculas, véase, por ejemplo, el caso de los pares *miR-663/miR-34a* y *miR-21/miR-34a*. En cuanto a los marcadores investigados, se observó que la mayoría de los valores de correlación no eran significativos al final del estudio. La correlación entre los niveles de proteína y ARNm de TNF- $\alpha$  en las PBMC permaneció siendo significativa sólo en el grupo que consumió GE-RES. Además, la ALP sérica mostró una correlación negativa con los niveles de ARNm de TNF- $\alpha$ .

## **6.4. Discusión**

Además de que los ensayos clínicos que abordan los efectos anti-inflamatorios del RES son limitados, muy pocos estudios en pacientes han explorado los posibles mecanismos moleculares modulados tras la ingesta de este polifenol. En este contexto, el presente estudio añade información al conocimiento sobre los efectos del consumo de dosis bajas de RES a largo plazo en pacientes medicados con cardiopatía establecida. Los principales resultados fueron: i) el consumo durante un año de extracto de uva convencional (GE) o extracto de uva conteniendo RES no modificó significativamente en los voluntarios (pacientes masculinos hipertensos y con T2DM) ninguna de las siguientes variables: peso corporal, presión arterial, niveles de glucosa, HbA1c y lípidos en suero, más allá de los valores regulados por la medicación estándar; ii) el consumo de GE y GE-RES no causó en general cambios significativos en un amplio grupo de marcadores séricos analizados excepto una reducción pequeña pero significativa de ALP; además, en el grupo que consumió GE-RES los niveles de IL-6 disminuyeron significativamente; iii) los resultados del análisis de expresión génica en PBMC

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

indicaron un efecto modulador general del GE-RES en diversos factores de transcripción y moléculas implicadas en procesos inflamatorios; iv) en concreto, se confirmó que en estas células de pacientes que tomaron GE-RES se produjo una regulación significativa en la expresión de las citoquinas proinflamatorias *CCL3*, *IL-1 $\beta$*  y *TNF- $\alpha$* , así como del represor transcripcional *LRRFIP-1*; v) además, un grupo de *miR* implicados en la respuesta inflamatoria, *miR-21*, *miR-181b*, *miR-663*, *miR-30c2*, *miR-155* y *miR-34a* se expresan en PBMC altamente correlacionados y también se modularon de forma significativa en el grupo que consumió GE-RES.

Los estudios realizados en roedores han indicado que el RES disminuye la presión arterial, glucosa y lípidos séricos. En cerdos, un animal con semejanzas fisiológicas y genómicas a los seres humanos (Kuzmuk & Schook, 2011), el RES mostró efectos variados. Por ejemplo, en cerdos alimentados con una dieta rica en grasas, la suplementación durante 7-11 semanas con 100 mg de RES/kg de peso corporal (dosis equivalente humana, HED: ~6,4 g/persona de 70 Kg) causó una reducción de los niveles de colesterol sérico, glucosa, IMC y presión arterial sistólica (Robich *et al.*, 2010, 2011) mientras que una dosis 800 veces menor (8 mg/persona de 70 kg) durante un año no afectó a ninguna de estas variables (Azorín-Ortuño *et al.*, 2012b), lo que sugiere que se necesitan altas dosis farmacológicas en lugar de dosis dietéticas de RES para provocar cambios significativos en estos modelos. Nuevamente, surge la duda de si los efectos espectaculares descritos en este tipo de estudios usando cantidades de varios gramos de RES diarios, realmente aportan datos válidos en su extrapolación a las personas. En humanos, los resultados publicados hasta la fecha son limitados e inconsistentes y, no sólo dependen de la dosis y duración del ensayo sino también de los individuos evaluados, por ejemplo, pacientes medicados o voluntarios sanos. En pacientes con T2DM, se ha descrito la reducción de la presión arterial, glucosa, HbA1c y



lípidos séricos con el consumo de altas dosis de RES (250 mg durante 3 meses) (Bhatt *et al.*, 2012) mientras que dosis más pequeñas (10 mg durante 4 semanas) afectaron únicamente a los niveles de glucosa (Brasnyó *et al.*, 2011). Por otro lado, en pacientes con sobrepeso (Crandall *et al.*, 2011) o con síndrome metabólico (Fujitaka *et al.*, 2011) estas variables no se modifican incluso con altas dosis de RES y, en voluntarios sanos, sólo se ha observado una pequeña reducción en la presión sistólica (Timmers *et al.*, 2011) y en los triglicéridos (Bo *et al.*, 2012) después de la ingesta de altas dosis de RES durante 30 días. En nuestro estudio, tanto la dosis baja de RES administrada como el hecho de que estas variables estaban bien controladas por la medicación pueden contribuir a explicar la ausencia de efectos del RES sobre estas variables. Si detectamos, sin embargo, una disminución pequeña pero significativa de ALP en el suero de los voluntarios que consumieron GE y GE-RES. Estos resultados concuerdan con estudios previos que muestran una reducción significativa de la ALP en cerdos alimentados con una dieta hipercolesterolémica y suplementados con RES (Burgess, *et al.*, 2011). La importancia fisiológica de estos resultados no está clara pero la actividad de la ALP ha sido asociada con la regulación de glucosa (Evliyaoğlu, *et al.*, 2011) y se ha descrito que en pacientes diabéticos, la ALP está ligeramente aumentada (17%) de forma significativa (Yassin, *et al.*, 2011). Además, el tratamiento con algunos medicamentos antidiabéticos causa una disminución en los niveles de la fosfatasa alcalina en suero que se correlaciona positivamente con cambios en los niveles de IL-6 (Berberoglu, *et al.*, 2007) y por tanto, puede hipotetizarse que una reducción, aunque sea moderada, en la ALP puede estar asociada a una disminución en el estado inflamatorio. En concordancia con esto y con estudios celulares y animales previos, nuestros estudios evidencian también una reducción significativa en los niveles séricos de IL-6 tras la ingesta de GE-RES durante un año. Sin embargo, otros ensayos en humanos con dosis altas de RES

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

(75 mg – 1500 mg de 1 a 3 meses) no muestran cambios en la IL-6 sérica (Yoshino *et al.*, 2012; Poulsen *et al.*, 2012) dando evidencia, una vez más, de la variabilidad de los efectos del RES y de su dependencia de la dosis, duración del tratamiento y estado de salud de los individuos.

En nuestro estudio también observamos una disminución significativa en la expresión de citoquinas pro-inflamatorias clave implicadas en la patogénesis de T2DM (Alexandraki, *et al.*, 2006) en las PBMC aisladas de voluntarios que consumieron GERE durante 12 meses. Las PBMC juegan un papel crítico en la respuesta inflamatoria y se consideran adecuadas para el análisis comparativo de la expresión génica después de intervenciones dietéticas en humanos (Milenkovic, *et al.*, 2011, de Mello, *et al.*, 2012), aunque la variabilidad debe ser controlada por protocolos estrictos de manejo y procesamiento de las muestras (Mesko *et al.*, 2012). En este estudio, las PBMC se aislaron siempre de pacientes en ayunas durante el mismo espacio de tiempo en la mañana y procesadas en el espacio de 1 hora. Mediante citometría de flujo se constató que la poblaciones celulares aisladas en cada muestra fueron bastante homogéneas, estando constituidas principalmente por linfocitos (84,4±2,9%), monocitos (13,0±3,2%) y un pequeño porcentaje de granulocitos (2,2±1,0%).

En consonancia con nuestros resultados, varios estudios en animales y células han indicado que el RES se asocia con una disminución de la transcripción de *IL-1β* y *TNF-α* (Švajger & Jeras, 2012). Estudios más específicos investigando el efecto del RES en la regulación de la expresión génica en cultivos de linfocitos o monocitos o en PBMC son escasos, pero, por ejemplo, se ha descrito que el RES suprime la transcripción de *IL-8* en cultivos de monocitos humanos inducidos por éster de forbol (Shen, *et al.*, 2003) y reduce la transcripción de *TNF-α* e *IL-8* en cultivos de PBMC inducidas por LPS/IFN $\gamma$  (Richard, *et al.*, 2005). Estudios recientes han examinado los cambios de

expresión de genes específicos *in vivo* en PBMC tras el consumo de RES. En sujetos sanos, el consumo de un extracto de planta (*Polygonum cuspidatum*) conteniendo RES (40 mg) durante 3 a 6 semanas condujo a una reducción significativa de diversos transcritos relacionados con inflamación, incluyendo transcritos de *TNF- $\alpha$* , *IL-6* e *I $\kappa$  $\kappa$ B*, así como a la reducción en la actividad de unión del NF- $\kappa$ B (Ghanim *et al.*, 2010), un factor de transcripción que contribuye a la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria y desencadena el reclutamiento de monocitos al espacio sub-endotelial, un hito crucial en la patogénesis de la aterosclerosis (Kutuk & Basaga, 2003). En un estudio posterior, sujetos sanos alimentados con una dieta rica en grasas y carbohidratos, y suplementados con RES en combinación con un extracto de uva “*muscadine*”, presentaron una disminución significativa en los niveles de ARNm de *IL-1 $\beta$*  inducidos por la dieta pero ningún efecto sobre *TNF- $\alpha$*  (Ghanim *et al.*, 2011). También, utilizando microarrays en PBMC de voluntarios sanos después de la ingesta de RES, RES-fosfato o de un extracto de uva rico en catequinas se detectaron cambios en genes involucrados con mecanismos antioxidantes, antiinflamatorios, y relacionados con el estrés (De Groote, *et al.*, 2012). En nuestro estudio, los análisis funcionales de los resultados de los *microarrays* nos permitieron detectar la posible inactivación de varios factores de transcripción relacionados con la inflamación en las PBMC del grupo de pacientes que consumieron el GE-RES (**Tabla 6.3**) y que, como consecuencia, la transcripción de varios genes implicados en la inflamación estaría disminuida (**Figura 6.1**). Estos resultados apoyan que el consumo de RES puede estar asociado a un efecto antiinflamatorio moderado parcialmente debido a una disminución en la transcripción de citoquinas pro-inflamatorias en células del sistema inmune circulantes. Este efecto podría estar mediado a través de la regulación del sistema de señalización de NF- $\kappa$ B que se incluye entre los factores que nuestro análisis funcional predijo como inactivado las PBMC

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

aisladas de los pacientes que consumieron GE-RES (**Tabla 6.5**). La inactivación de este factor puede estar asociada a diferentes causas, como por ejemplo, la disminución de la expresión de la subunidad *NFKB-1* y/o al incremento del inhibidor *NFKBIA*. Nuestros resultados de RT-PCR y microarrays no confirmaron, sin embargo, esta hipótesis y por tanto, la inactivación de la ruta de señalización de NF- $\kappa$ B puede que haya sido mediada a través de mecanismos alternativos. En este contexto, resulta de interés que en el grupo de voluntarios que consumió GE-RES detectamos un aumento significativo en la expresión de *LRRFIP-1*, un gen que codifica un represor transcripcional que regula la señalización de receptores tipo *Toll*, y cuya sobreexpresión inhibe los niveles de expresión de *IL-1 $\beta$*  y de *TNF- $\alpha$*  en líneas celulares monocíticas (Arakawa, *et al.*, 2010). *LRRFIP-1* podría pues estar implicado en la regulación de estas citoquinas en nuestro estudio.

En cuanto al contenido de proteína TNF- $\alpha$  en las PBMC no se detectó ningún cambio paralelo a la disminución del ARNm. Aunque una falta de correlación entre los cambios de transcripción y traducción a proteína puede deberse a diferencias entre el tiempo de vida medio y la estabilidad de las moléculas de ARNm y proteína (Vogel & Marcotte, 2012), no se puede descartar que la variabilidad de los datos de proteínas y el reducido número de participantes por grupo puedan impedirnos detectar cambios a este nivel. Tampoco encontramos una correlación entre los niveles de TNF- $\alpha$  en las PBMC y los niveles séricos de esta citoquina, lo que puede explicarse por el hecho de que los niveles de TNF- $\alpha$  circulantes pueden proceder no sólo de leucocitos periféricos, sino también de la pared de los vasos y otros tejidos linfoides, o de las células no-linfoides como hepatocitos y adipocitos. Además, las citoquinas circulantes pueden unirse a proteínas de la matriz extracelular o a receptores específicos y no representar el grado real de activación o inactivación inmune (Füth, *et al.*, 2004). Se ha sugerido que la

expresión génica en células sanguíneas periféricas puede afectarse más fácil y rápidamente que los niveles de citoquinas sistémicas y podría constituir una señal independiente para la modulación de la inflamación sistémica (Kempf, *et al.*, 2006, Navarro, *et al.*, 2008).

Evidencias crecientes sugieren que los *miR* juegan un papel importante en enfermedades inflamatorias como la obesidad y T2DM (Dehwah, *et al.*, 2012). *miR-155*, *miR-21*, *miR-181b* y *miR-34a* están entre los más investigados en relación con la inflamación y están implicados en la regulación de la señalización de receptores tipo *Toll* y de NF- $\kappa$ B (Ma *et al.*, 2011) así como en la regulación de los niveles de citoquinas pro-inflamatorias como *TNF- $\alpha$* , *IL-1 $\beta$*  e *IL-6* (Roggli *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2012). Nuestros resultados indican que en los pacientes que consumieron GE-RES durante 12 meses, la reducción en la expresión observada para las citoquinas pro-inflamatorias en las PBMC fue concomitante con mayores niveles de *miR-21*, *miR-181b*, *miR-663* y *miR-30c2* y menores niveles de *miR-155* y *miR-34a* en este grupo en comparación con el grupo placebo o GE. El papel regulatorio exacto de estas moléculas es difícil de determinar ya que se han descrito tanto efectos de las citoquinas sobre los niveles de *miR* como de estos en los niveles de citoquinas. De hecho, algunos *miR* parecen actuar como sistema tampón, contribuyendo a mantener el equilibrio en las rutas de señalización frente a alteraciones fisiológicas moderadas actuando tanto sobre componentes reguladores positivos y negativos (Small & Olson, 2011). Por ejemplo, *miR-181b* es un potente regulador positivo de la señalización de NF- $\kappa$ B y mientras que *TNF- $\alpha$*  reduce la expresión de *miR-181b*, *miR-181b* a su vez suprime la expresión de genes pro-inflamatorios inducida por *TNF- $\alpha$*  en células endoteliales (Sun, *et al.*, 2012). También se ha descrito que *miR-21* actúa como un agente anti-inflamatorio en un bucle de regulación negativo: la actividad de NF- $\kappa$ B es necesaria para la inducción de *miR-21*

**Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

pero este también actúa inhibiendo NF- $\kappa$ B y sus dianas transcripcionales pro-inflamatorias, *TNF- $\alpha$*  e *IL-1 $\beta$*  (Rogli *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2011). El *miR-34a* ha sido recientemente identificado como un regulador negativo de la inflamación en los macrófagos donde la inhibición de *miR-34a* aumenta la expresión de *TNF- $\alpha$*  e *IL-6* (Jiang, *et al.*, 2012). El *miR-30c2* también es inducido por NF- $\kappa$ B (Byrd, *et al.*, 2012) y se asocian bajos niveles de este *miR* con altos niveles de PAI-1 (Marchand, *et al.*, 2012). Hay que destacar que *miR-21*, *miR-34a* y *miR-30c2* han sido relacionados también con diabetes (Rogli *et al.*, 2010; Dehwah *et al.*, 2012). Se ha descrito que *miR-663* está implicado en la respuesta inflamatoria de las células endoteliales humanas a través de la reducción de la adhesión de monocitos inducida por TNF- $\alpha$  (Ni, *et al.*, 2011), y *miR-155* es uno de los *miR* más dinámicamente regulados y altamente expresado en linfocitos B y T activados y en monocitos/macrófagos. Los niveles de *miR-155* se incrementan durante la respuesta inmune en correlación con la activación del NF- $\kappa$ B y su aumento contribuye a la producción de TNF- $\alpha$  (Tili, *et al.*, 2009, Ma, *et al.*, 2011). Por el contrario, la inhibición de *miR-155* reduce la producción de TNF- $\alpha$  (Kurowska-Stolarska, *et al.*, 2011). Además, se ha descrito que tanto TNF- $\alpha$  como IL-1 $\beta$  incrementan la expresión de *miR-155* (Stanczyk, *et al.*, 2008). En general, se ha descrito que *miR-155* actúa en la promoción de la inflamación de los tejidos dependiente de células T y su represión ha sido considerada como una diana terapéutica en el tratamiento de enfermedades inmunitarias (O'Connell, *et al.*, 2010). Toda esta información sugiere que la co-regulación de estos *miR* en las células linfocitarias debe tener un papel importante en la regulación de la respuesta inflamatoria.

Un dato importante en relación con la regulación de la respuesta inflamatoria es que numerosos compuestos de la dieta, como por ejemplo los polifenoles y entre ellos el RES, parecen modular diversos *miR* relacionados con enfermedades metabólicas y

crónicas (Bladé, *et al.*, 2013). Por ejemplo, y de acuerdo con algunos de nuestros resultados, se ha descrito que RES aumenta la expresión de *miR-663* y disminuye la de *miR-155* en células monocíticas humanas THP-1 y en monocitos de la sangre humana. Se sabe que el *miR-663* tiene como diana los transcritos de *JunB* y *JunD*, los cuales son componentes del complejo de transcripción regulador de inflamación AP-1 (Tili, *et al.*, 2010). En nuestros resultados de *microarrays* (**Tabla Suplementaria 6.1, Anexo 2**) puede verse la disminución de la expresión de componentes del complejo AP-1, *JUND* y *ATF2*, cuyos dímeros están implicados en la regulación de diversos genes diana cuyos productos regulan la activación, proliferación, diferenciación y apoptosis de leucocitos (Foletta, *et al.*, 1998) lo que sugiere que el efecto anti-inflamatorio de GE-RES también puede ser mediado a través de este complejo. Además, la actividad de NF- $\kappa$ B y AP-1 está regulada por CREBBP (Vo & Goodman, 2001), que también se predijo estar inhibido tras el consumo de GE-RES. Asimismo, el factor de transcripción KLF2, el cual disminuye la expresión de PAI-1 y regula negativamente la activación proinflamatoria de monocitos mediante la inhibición de NF- $\kappa$ B y AP-1 (Lin, *et al.*, 2005), también se predijo su activación exclusivamente en este grupo GE-RES.

En general, nuestros resultados apoyan, *in vivo*, la participación de la regulación efectuada por los *miR* en la respuesta anti-inflamatoria molecular observada en las PBMC tras el consumo a largo plazo de GE-RES. Como se ha indicado, encontramos correlaciones altas y estadísticamente significativas entre la mayoría de los *miR* investigados antes y después de la suplementación (**Tablas 6.8 y 6.9**). Debido a que múltiples *miR* co-expresados pueden regular cooperativamente un proceso biológico o patológico determinado (Milenkovic, *et al.*, 2012), nuestros resultados sugieren que los *miR* investigados pueden ser parte de una red moduladora y cooperar en la regulación de los efectos anti-inflamatorios observados en las PBMC. La posibilidad de poder

## **Estudio génico en células mononucleares de sangre periférica aisladas de pacientes hipertensos con diabetes de tipo 2 y enfermedad arterial coronaria**

modular diferentes *miR* que influyen en las rutas inflamatorias a través de una ingesta de RES a dosis dietéticas añade nuevas perspectivas para la prevención o tratamiento de trastornos inflamatorios. Serán necesarias muchas más investigaciones antes de que el vínculo entre RES y *miR* pueda ser claramente establecido e incorporado en la atención clínica.

### **6.5. Limitaciones y conclusión**

La principal limitación de este estudio es el tamaño muestral ya que se ha realizado en un número relativamente pequeño de pacientes (n=35; 9-13 por grupo) y por lo tanto, es necesario un mayor tamaño muestral para confirmar estos resultados. Sin embargo, este estudio proporciona evidencia preliminar que indica que el consumo a largo plazo de un extracto de uva que contiene 8 mg de RES: i) regula la expresión de varias citoquinas importantes y, ii) modifica la expresión de una red moduladora de *miR* involucrados en la respuesta inflamatoria, en las células circulantes del sistema inmune de pacientes hipertensos con T2DM y EAC estable, y tratados de acuerdo con las guías actuales para la PS de ECV.

Puesto que la T2DM se reconoce como una enfermedad inflamatoria donde la activación de PBMC es un aspecto relevante adicional que puede ser causado por una alteración de la producción de citoquinas y de la interacción entre los adipocitos y las células inmunes circulantes (Xiao, *et al.*, 2012), estos resultados apoyan un efecto beneficioso inmunomodulador del GE-RES, que puede contribuir al tratamiento de la T2DM. Aunque la presencia del RES parece importante en los efectos observados, al comparar los grupos GE y GE-RES, sin embargo, no se puede descartar que estos efectos resulten de la acción combinada del RES con otros compuestos fenólicos



presentes en el extracto de uva y/o con algunos de los medicamentos específicos administrados a estos pacientes.



# CAPÍTULO 7

## *Discusión General*



## **CAPÍTULO 7**

---

### **7. Discusión general**

Tal y como se ha comentado en capítulos anteriores, las ECV son la causa principal de muerte prematura en los países desarrollados, afectando a personas de ambos sexos e incluso a edades más tempranas que en otras épocas. Así, en Europa (año 2008), las ECV fueron responsables del 42% de todas las muertes en mujeres de menos de 75 años y del 38% en hombres de igual edad. Según estimaciones realizadas, en el año 2020, las ECV serán la primera causa de mortalidad e incapacidad en todo el mundo (aproximadamente 25 millones de personas). En España, la tasa de mortalidad por dicha causa ha oscilado entre el 31,7 y el 31,2% en los años 2008-2010 (121.000-130.000 muertes/año). Con escasa diferencia, pero de forma mantenida, siempre ha habido un predominio de la cardiopatía isquémica en el hombre y de la enfermedad cerebrovascular en la mujer.

Los gastos generados por la ECV en la Unión Europea (2005) fueron de 181.000 millones de € y, en España, el coste total de la cardiopatía isquémica en 2003 fue de 1.949 millones de €. Se han observado cambios favorables en la tendencia de mortalidad que ha sido más llamativa en países más ricos, como E.E.U.U., Canadá, Australia, Francia y Japón, llegando a reducciones del 35-45%. En países como España, Irlanda y Portugal, esta reducción se puede estimar en un 20-25%. Varias son las causas de esta tendencia favorable:

- a. Las medidas de “Prevención Primaria”, para evitar la aparición de un primer episodio de la ECV, que incluyen tanto medidas “poblacionales” (por ejemplo: prohibición del tabaco, campañas para evitar comidas con grasas

## Discusión General

saturadas o la ingesta excesiva de sal...), como el tratamiento de los factores de riesgo en personas con alto riesgo cardiovascular.

- b. Asimismo, la mejora del tratamiento y diagnóstico de la ECV (revascularización coronaria, dispositivos cardíacos, fármacos...), incluidas las medidas de “Prevención Secundaria” en los pacientes que ya han tenido manifestación de ECV.
- c. Analizando las causas de este beneficio, se observa un predominio del impacto de las medidas de prevención (control de los factores de riesgo) sobre el beneficio derivado de los nuevos tratamientos.

Los factores de riesgo más importantes, favorecedores de la aparición de las ECV, son: alteración del perfil lipídico en sangre (principalmente colesterol), tabaco, factores psicosociales, diabetes, hipertensión arterial, obesidad, sedentarismo y dietas inadecuadas. Estos factores asociados al infarto agudo de miocardio, explican el 90% del “riesgo poblacional atribuible” en hombres y el 94% en mujeres. Como se ha dicho, su control adecuado y muy estricto disminuye la posibilidad de aparición de la ECV (Prevención Primaria) o su recaída (Prevención Secundaria). Sin embargo, no siempre se consiguen los objetivos de prevención en los pacientes, bien por medicación ineficaz, por dosis inadecuada, mala colaboración del paciente, etc. (por ejemplo, en estudios realizados se ha visto que casi el 50% de los pacientes en PS, no alcanzan las cifras “objetivo” de LDL-colesterol). Otro problema es que la toma de algunos fármacos habituales para el control de los niveles de lípidos en sangre, como las estatinas, puede ser abandonada (en el 10-20% de casos) por efectos secundarios (como por ejemplo dolores musculares). Las medidas a aplicar para conseguir esta prevención, son variadas: Tratamiento optimizado con fármacos que han demostrado su efecto beneficioso (estatinas, betabloqueantes, IECA/ARA-II, antiagregantes), medidas de

estilo de vida saludable (restricción de grasas, abundantes verduras y frutas, poca sal, no fumar, ejercicio, pérdida de peso, etc.). En este sentido, dentro de estas medidas no farmacológicas, se sabe desde hace tiempo el efecto cardioprotector de la “dieta mediterránea” (nombrada por la UNESCO como “Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad”) a través de diversos estudios epidemiológicos. Muy recientemente, en un ensayo de intervención con más de 7.000 personas durante casi 5 años se ha descrito que la adherencia a esta dieta se correlaciona con una disminución en la aparición de infarto agudo de miocardio, ictus y muerte cardiovascular en pacientes de alto riesgo cardiovascular que aún no habían tenido eventos de ECV (PP) (Estruch, *et al.*, 2013).

Considerando la dimensión del problema, resulta esencial la búsqueda de estrategias complementarias que puedan ofrecer un beneficio añadido al tratamiento farmacológico optimizado en pacientes con riesgo cardiovascular. En este contexto, el objetivo de los alimentos funcionales y/o nutracéuticos es incrementar la ingesta de compuestos bioactivos beneficiosos, incluidos los compuestos fenólicos de origen vegetal, con el objetivo de ayudar a prevenir el riesgo de padecer ciertas enfermedades, incluidas las ECV. Sin embargo, a nivel mundial, son muy escasos los ensayos clínicos placebo-controlados a largo plazo con este tipo de complementos para demostrar eficacia y seguridad en pacientes.

Los nutracéuticos son suplementos dietéticos, presentados en una matriz no alimenticia (ej. cápsulas), obtenidos a partir de una sustancia natural bioactiva, presente usualmente en los alimentos, que al tener una concentración superior a la existente en el alimento *per se*, tienen, presumiblemente, un efecto ventajoso sobre la salud mayor que aquel que podría tener el propio alimento (Espín, *et al.*, 2007). Uno de estos compuestos fenólicos, el RES, ocupa un lugar destacado no solo como componente de nutracéuticos, sino incluso como potencial fármaco multi-diana debido a la gran cantidad de efectos

## Discusión General

beneficiosos para la salud que se le atribuyen, si bien la gran mayoría están basados en numerosas investigaciones preclínicas pero en escasos estudios clínicos con personas. En la mayoría de estos estudios en humanos se ha evaluado la farmacocinética y perfil metabólico de este polifenol, y muchas menos veces se han investigado los efectos para la salud del consumo de RES o de productos que lo contienen a través de ensayos clínicos aleatorios y controlados por placebo. En los últimos años, el número de ensayos dirigidos a la evaluación de efectos cardioprotectores de RES o de productos que lo contienen, viene aumentando considerablemente, pero siguen persistiendo algunos interrogantes.

En los últimos años se han publicado algunas revisiones donde se ha ido marcando la dirección a seguir en la investigación sobre este polifenol y sus efectos en la salud. Sin embargo, debemos recordar que en 2007, cuando el Proyecto en el que se incluye la presente Tesis Doctoral fue diseñado (*Resveratrol de la dieta como cardioprotector. Biodisponibilidad, metabolismo y modulación de la expresión génica y función cardiovascular en cerdos y humanos CYT-BFU2007-60576*), ya se anticiparon muchas de las lagunas existentes y se orientó la investigación a esclarecer la posible actividad cardioprotectora y mecanismos de acción de este polifenol en personas. Una primera Tesis Doctoral presentada en Diciembre-2011 recopiló los estudios realizados en el cerdo como animal modelo. En la presente Tesis Doctoral nos hemos planteado contestar (al menos en parte) una serie de preguntas que nos parecieron relevantes con respecto a las lagunas existentes, existentes en 2007 y que aún perduran. En muchos de los ensayos realizados en personas se han empleado concentraciones de RES inalcanzables en la dieta (desde cientos de miligramos a gramos, y además, aumentando las probabilidades de efectos adversos) y la duración nunca fue superior a unos pocos meses (enmascarando potencialmente efectos adversos y “obligando” al uso de estas



altas concentración para evaluar los efectos en un corto período de tiempo). Algunos de estos ensayos se realizaron en personas sanas con marcadores de riesgo dentro del intervalo de valores considerados normales, habiéndose observado apenas cambios (algo que parece del todo razonable). En el transcurso de esta Tesis han aparecido varios ensayos realizados en pacientes (en riesgo o con enfermedad establecida, pero en ambos casos medicados). Cuando esta Tesis se planteó, no existían estos estudios. Que hayan aparecido antes se debe simplemente a que la duración máxima de dichos ensayos ha sido de 3 meses, realizados en menos pacientes, donde han evaluado menos marcadores, y no se ha abordado como objetivo la seguridad del ensayo.

Por otro lado, los innumerables mecanismos y rutas moleculares propuestas por la investigación preclínica han sido raramente confirmados en humanos. Teniendo todo esto en cuenta, nos propusimos realizar dos ensayos clínicos con pacientes de alto riesgo cardiovascular y sometidos a un tratamiento farmacológico optimizado, donde nuestro objetivo sería la búsqueda de un efecto cardioprotector adicional, más allá de la medicación de estos pacientes y evaluando posibles efectos adversos. Pareció lógico que se planteara un ensayo a largo plazo (1 año), con un consumo diario de un nutracéutico formado por un extracto de uva enriquecido en dosis dietéticas de RES. Gracias al diseño de tres brazos (placebo, extracto de uva convencional y extracto de uva enriquecido en RES tras tratamiento con UV) también nos permitiría valorar el protagonismo del RES frente al resto del polifenoles de la uva (por ejemplo, antocianos, procianidinas, etc.), más abundantes que RES.

Aunque en la Tesis nos hemos centrado en el efecto sobre marcadores de riesgo cardiovascular, no hemos renunciado a intentar establecer algunos de los posibles mecanismos de acción *in vivo* del extracto de uva conteniendo RES, investigando posibles cambios en los niveles de expresión de un conjunto de genes y miR,

## Discusión General

relacionados con inflamación y aterotrombosis, en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de estos pacientes.

El comité ético del Hospital Morales Meseguer de Murcia no permitió la inclusión de un cuarto brazo en el diseño del estudio (solo RES de extracto de *Polygonum cuspidatum* de China) porque no disponíamos de referencias bibliográficas que probasen que este tipo de extractos fueran seguros en pacientes poli-medicados a largo plazo (ni las teníamos en 2007, ni existen en la actualidad a pesar de comercializarse ampliamente y consumirse en altas dosis).

Por tanto, sin obviar la contribución del contenido polifenólico de la uva, se hará especial hincapié en la figura del RES que nos servirá de hilo conductor. Aunque veremos que RES es muy importante en los efectos observados, siempre hay que considerarlos como resultado de la asociación de todos estos polifenoles, incluido el RES, más que por el efecto individual de alguno de ellos.

### **7.1. Efectos potenciales (preclínicos) frente a evidencia en humanos**

Los numerosos estudios preclínicos llevados a cabo hasta ahora han proporcionado resultados alentadores con respecto a las propiedades beneficiosas del RES contra las enfermedades crónicas como las ECV (Baur & Sinclair, 2006). Algunas de estas propiedades se han observado incluso con dosis dietéticas, y muchas veces se ha encontrado correlación entre los datos de estudios *in vitro* y en animales. Sin embargo, existe un gran desequilibrio entre el número de ensayos preclínicos y los pocos estudios realizados en personas. Además, de todos los mecanismos descritos para RES en modelos “preclínicos” (**Figura 1.16**), sólo unos pocos de ellos han sido

confirmados en humanos, incluyendo las cascadas de señalización a través de la ruta Akt (Brasnyó, *et al.*, 2011) y la regulación de algunos genes diana o proteínas en células sanguíneas periféricas (Ghanim *et al.*, 2010, 2011) o de músculo (Timmers, *et al.*, 2011). La mayor evidencia en seres humanos (aunque aún escasa) está relacionada con la actividad cardioprotectora del RES a través de la mejora de marcadores inflamatorios, perfil aterogénico, metabolismo de la glucosa y función endotelial (**Tabla 1.4**). En este sentido, a pesar de que se hayan hecho avances esperanzadores, la confirmación del RES como molécula beneficiosa y segura para el consumo humano está aún por llegar, pues ahora se empiezan a obtener evidencias sólidas a partir de ensayos clínicos, entre los que se incluyen los dos ensayos clínicos llevados a cabo en la presente Tesis Doctoral.

Hasta la fecha, únicamente han sido registrados, en una clasificación no demasiado precisa según el tiempo de intervención, ensayos clínicos en humanos agudos (horas-días) y de corto plazo (semanas-pocos meses) (**Tabla 1.4**). Los ensayos clínicos realizados durante la presente Tesis Doctoral representarían los primeros ensayos de larga duración (año(s)) con un producto que contiene RES. Es difícil establecer el intervalo de tiempo preciso para evaluar efectos “preventivos” o “curativos” da través de una intervención dietética en la que también deben evaluarse posibles efectos adversos. Los términos dosis aguda (dosis muy alta y única), subcrónica (dosis repetitivas durante semanas-pocos meses) y crónica (dosis repetitivas durante muchos meses-años) están bien establecidos para evaluar efectos toxicológicos. En general, la actividad biológica de los fitoquímicos, como el RES, es baja en comparación con la mayoría de los fármacos destinados a curar. Además, en el contexto de una molécula de la dieta, no hay una definición de lo que se considera una concentración baja o alta. Normalmente, una dosis de RES (o de otros constituyentes de

## Discusión General

la dieta) que puede ser ingerida a través de la dieta se considera una dosis “normal”, en este caso esa normalidad se correlaciona con una baja presencia en la dieta y por tanto una dosis “baja” en términos cuantitativos. Por ejemplo, una cantidad limitante para lo que se consideraría una dosis de RES baja podría ser de 15 o 20 mg RES (hipotéticamente equivalentes a 1 litro de vino tinto con la mayor concentración de RES descrita nunca, que no es lo más representativo, pero sí sería posible). Lo que está claro es que a través de la dieta no podemos consumir 50, 100, 300 mg o incluso gramos, que son dosis muy utilizadas en diversos estudios. Puesto que el contenido de RES en la dieta es bajo e impredecible, el consumo de un nutraceutico conteniendo una dosis baja de RES estandarizada parece razonable. Dosis mayores no pueden justificarse a través de la dieta. Si se asume lo anterior, la mayoría de los estudios en personas han ensayado altas concentraciones de RES (hasta varios gramos) y sólo en algunos casos, entre los que se incluyen los ensayos realizados en la presente Tesis Doctoral, se usaron concentraciones más cercanas a un contexto dietético. En este sentido, a pesar de la relativamente baja concentración de RES en el vino, siempre se ha atribuido a esta molécula un papel clave.

### **7.2. Vino y salud: El papel del resveratrol**

Muchos estudios *in vitro* o en animales (algunos estudios en humanos también) justifican, generalmente, los resultados obtenidos con la presencia de RES en la dieta humana (independientemente de la dosis ensayada). Sin embargo, el RES es insignificante como parte de la dieta humana (Zamora-Ros, *et al.*, 2008). La fuente más abundante de RES en la dieta es el vino tinto pero las cantidades son bajas e impredecibles (Cantos *et al.*, 2001; Stervbo *et al.*, 2007). Por lo tanto, (i) el consumo de

vino no garantiza necesariamente la ingesta suficiente de RES para ejercer efectos beneficiosos, (ii) la conjetura que correlaciona directamente la protección cardiovascular del vino tinto y su contenido de RES no es completamente cierta y (iii) la contribución específica del contenido de RES, minoritario en comparación con el resto de compuestos polifenólicos principales existentes en el vino tinto, no se conoce completamente. En este sentido, en los dos ensayos clínicos llevados a cabo durante la presente Tesis Doctoral, hemos utilizado un extracto de uva rico en RES (GE-RES) obtenido de uvas tratadas con luz UV, ofreciendo la posibilidad de incluir RES en la alimentación humana en su matriz dietética natural, la uva. Además, con el fin de evaluar la relevancia de RES con el resto de los fenólicos de la uva se incluyó un grupo que consumió extracto de uva convencional (GE) (obtenido de uvas sin tratamiento UV).

### **7.3. Efectos observados en marcadores de riesgo cardiovascular en pacientes de prevención primaria y secundaria. Posibles mecanismos y rutas involucrados.**

Muchos médicos e investigadores reconocen tanto la base fisiopatológica clínica de las ECV como la molecular y hay muchos grupos de investigación buscando para prevenir estas enfermedades. Muchos de estos estudios confirmaron que las ECV pueden prevenirse favorablemente por modificaciones en el estilo de vida y farmacoterapia (Capewell, *et al.*, 1999). Sin embargo, las farmacoterapias actuales a veces no alcanzan los objetivos propuestos (Veillard & Mach, 2002, Ozasa, *et al.*, 2012) y se siguen necesitando estrategias complementarias para mejorar los pronósticos relativos a estas enfermedades. Las asociaciones con la enfermedad vascular isquémica

## **Discusión General**

dependen considerablemente de los factores de riesgo convencionales y otros marcadores de inflamación y fibrinólisis. Con el fin de completar los factores de riesgo rutinariamente estudiados, se han ido proponiendo una serie de marcadores no tradicionales para la evaluación del riesgo de ECV como la hsCRP, PAI-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , LDLox, moléculas de adhesión (sICAM-1, sVCAM-1), adiponectina, IL-10, ApoB y otros.

En este contexto, durante esta Tesis Doctoral, se investigaron y analizaron los efectos en marcadores de riesgo cardiovascular de una intervención dietética con dos extractos de uva (de similar perfil polifenólico pero uno de ellos enriquecido en RES) a largo plazo, más allá de la farmacoterapia optimizada seguida por pacientes de elevado riesgo cardiovascular. Hay que recordar que no se nos permitió incluir un cuarto brazo en el diseño del estudio (que solo incluyera RES), algo que sí se pudo hacer en una Tesis Doctoral previa donde se usó el cerdo como animal modelo. En esta Tesis Doctoral previa se constató que los efectos observados en el grupo de cerdos que consumió RES por separado fueron más discretos en comparación con el grupo que tomó el GE-RES. Así que, aunque el RES parece tener un papel muy importante según los efectos observados durante la presente Tesis Doctoral, tras el consumo de GE-RES, siempre hay que considerarlos como resultado de la asociación de todos los polifenoles existentes en el extracto, incluido el RES, más que por el efecto individual de alguno de ellos.

Además de la implementación de estilos de vida saludables, parte del enfoque estratégico, tanto de la PP de riesgo cardiovascular como de la secundaria, consiste en el tratamiento farmacológico para prevenir la primera aparición y evitar la recurrencia de eventos cardiovasculares desfavorables, respectivamente. Así, tanto los participantes en la intervención dietética asociada a la PP de riesgo cardiovascular como de PS se

encontraban polimedicados.

En cuanto a los marcadores aterogénicos, el resultado más destacado fue la reducción significativa de ApoB y LDLox en el grupo GE-RES de pacientes de PP. Por el contrario, no se observaron efectos significativos en los grupos GE y placebo. Se sabe que los niveles elevados de ApoB se correlacionan con un mayor número de partículas cLDL de menor tamaño, las cuales se oxidan fácilmente originando LDLox y aumentando riesgo de ECV (Ehara, *et al.*, 2001). Por tanto, es importante no solo controlar la concentración de cLDL, sino también la aterogenicidad de estas partículas mediante la reducción en los niveles de ApoB para que sean menos susceptibles a la oxidación, que es el problema que realmente entraña riesgo cardiovascular. En este sentido, según la Sociedad Cardiovascular Canadiense, los valores de ApoB en el grupo GE-RES pasaron de un “fenotipo de riesgo” a un “fenotipo fuera de riesgo” al final del ensayo (< 90 mg/dL). Lamentablemente, solo se realizó un seguimiento de estos dos marcadores aterogénicos (ApoB y LDLox) en los pacientes de PP. Aparte de las limitaciones presupuestarias, creíamos que las probabilidades de que se produjeran cambios significativos en estos marcadores en pacientes de PP serían mayores que en pacientes de PS; esencialmente porque en los últimos el control en los niveles de marcadores del perfil lipídico es más restrictivo como consecuencia de una terapia farmacológica más contundente. Con respecto a otros marcadores del perfil lipídico, en ambos tipos de pacientes se observaron pequeños cambios significativos que no se confirmaron al final del estudio o cuyos valores se mantuvieron dentro de los intervalos considerados normales, careciendo de una relevancia clínica importante. De todas formas, no deja de ser un dato positivo que, al final del ensayo, en los pacientes de PS bajo tratamiento farmacológico optimizado, la carga aterogénica de lípidos de la sangre, medida como la fracción de colesterol que no incluye las lipoproteínas alta densidad

## Discusión General

(no-cHDL; es decir, el resto de lípidos altamente susceptibles de oxidarse), disminuyera significativamente tanto en el grupo GE (10%) como en el grupo GE-RES (13%).

Existen algunos ensayos clínicos donde se han usado extractos de uva o de semilla de uva (GSE) que se centraron principalmente en marcadores lipídicos. En general, no se han encontrado efectos en marcadores como el colesterol total, triglicéridos, cLDL o cHDL, en estudios en individuos sanos (de 300 mg hasta  $\approx$ 800 mg de extracto, entre 4-12 semanas de seguimiento) (Vigna, *et al.*, 2003, Hansen, *et al.*, 2005, Sano, *et al.*, 2007), si bien existe alguna excepción donde se ha observado una disminución significativa en el colesterol total y cLDL en comparación con el placebo (Yubero, *et al.*, 2012). En uno de los estudios referidos anteriormente en individuos sanos (Sano *et al.*, 2007), se verificó una bajada significativa tanto en el LDL modificado por malondialdehído (representando un tipo de LDLox) como en los niveles de ApoB, y una tendencia ( $P=0,088$ ) a un aumento en la adiponectina, tras el consumo diario de 400 mg de GSE (calculado como proantocianidinas), durante 12 semanas, por lo que comparte cierta tendencia con los resultados obtenidos en esta Tesis. En individuos con síndrome metabólico (Sivaprakasapillai, *et al.*, 2009) y con riesgo vascular por encima de la media (Clifton, 2004), que consumieron diariamente, durante 4 semanas, hasta 300 mg y 2 g (1 g de polifenoles, en yogur), respectivamente, no se verificaron cambios significativos en lípidos séricos. Por contra, se observó una reducción significativa en el colesterol total en un estudio en individuos con T2DM con elevado riesgo cardiovascular, que tomaron 600 mg de GSE al día, durante 4 semanas (Kar, *et al.*, 2009). Razavi *et al.* (2013) describieron una disminución en el colesterol total, cLDL y LDLox de individuos moderadamente hiperlipidémicos tras el consumo de 200 mg diarios de GSE durante 8 semanas.

Respecto al perfil inflamatorio y fibrinolítico, los resultados observados en esta



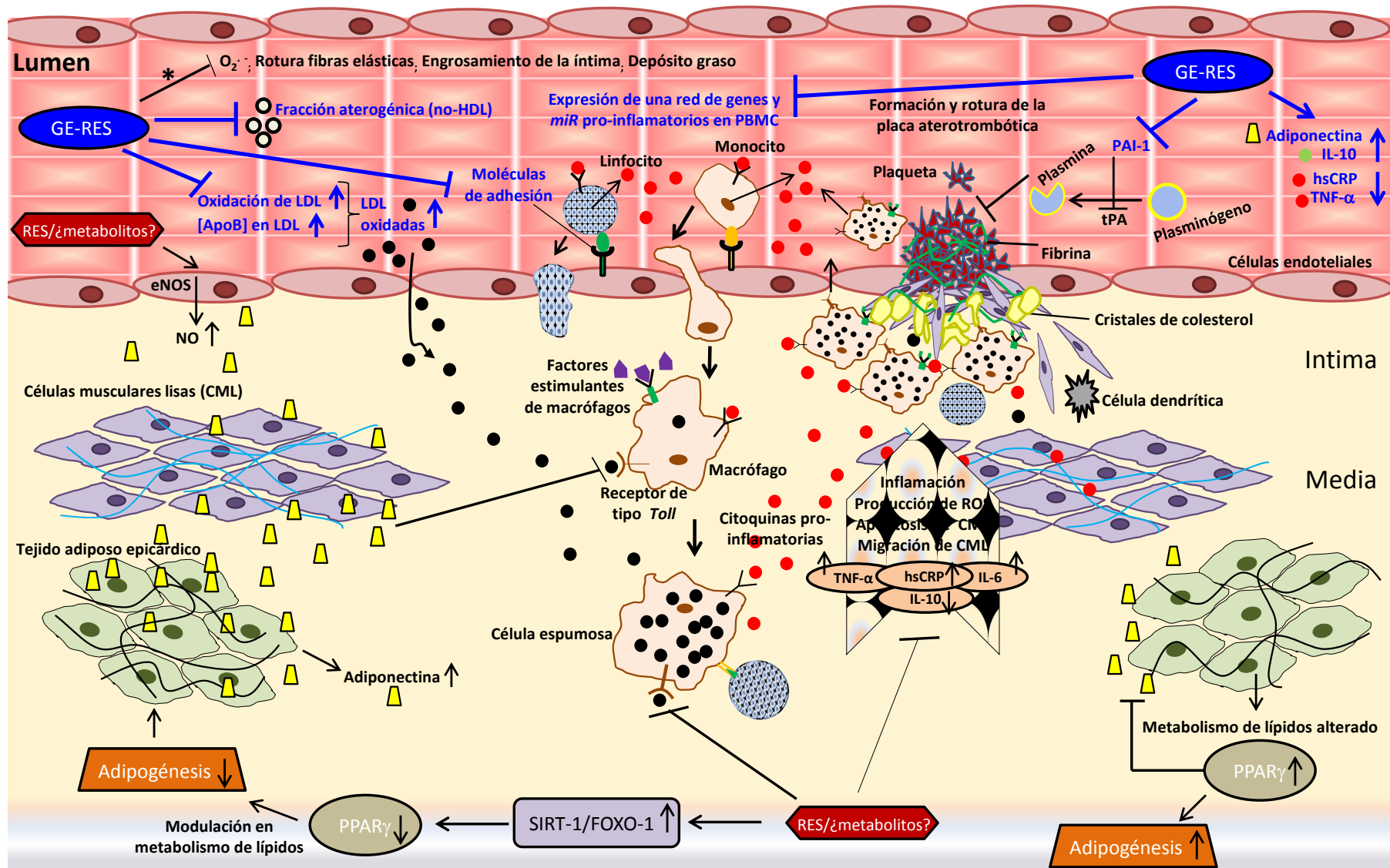
Tesis, en los pacientes que consumieron GE-RES, apuntan hacia el control y/o reducción de los niveles de varios marcadores analizados, sobre todo en los pacientes de PP. Algo que no se verificó, al menos de manera tan clara, en los pacientes incluidos en el grupo que consumió GE. El mediador pro-inflamatorio hsCRP, un marcador incluido en las tablas de cálculo de riesgo que ha mejorado la capacidad para estimar el riesgo cardiovascular en 10 años (Weil, *et al.*, 2011), sufrió una disminución significativa (26%) en pacientes de PP (34% frente a placebo) y una tendencia evidente a la bajada en PS. El mismo patrón se observó para el TNF- $\alpha$ . Una posible explicación para que los cambios observados en marcadores medidos en ambos ensayos clínicos fueran menos significativos en pacientes de PS puede deberse al control más estricto ejercido en los niveles de estos marcadores (inherente a la situación fisiopatológica de estos pacientes) mediante un mayor espectro de fármacos y dosis más elevadas. La adiponectina y el PAI-1, marcadores relevantes en inflamación y fibrinólisis, respectivamente, también se vieron afectados por el GE-RES, aunque en estos casos el resultado fue más claro en pacientes de PS, con una disminución importante, aproximadamente 23% en adiponectina y 57% en PAI-1, en relación al grupo que tomó placebo. Otros resultados positivos que se verificaron de forma relevante en los pacientes de PP incluyeron, frente a placebo, el aumento en los niveles de IL-10 (antiinflamatoria) (30%) y la disminución en el cociente pro-inflamatorio IL-6/IL-10 (50%). Además, se observó una tendencia hacia niveles más bajos en las moléculas de adhesión sICAM-1 y sVCAM-1, analizadas en PP y PS, respectivamente. De hecho, los niveles de sICAM-1 fueron significativamente inferiores (14%) en el grupo GE-RES en relación al grupo placebo.

Existen muy pocos ensayos clínicos en los que se han evaluado marcadores inflamatorios y fibrinolíticos tras el consumo de extractos de uva o GSE. En un estudio referido anteriormente (Clifton *et al.*, 2004), realizado en individuos con alto riesgo

## **Discusión General**

vascular (n=36), no se verificó un efecto en los niveles de PAI-1, hsCRP, ICAM-1 y VCAM-1, tras el consumo de GSE. Por otro lado, se observó una reducción significativa en la hsCRP en el estudio realizado por Kar y colaboradores (2009) en individuos con T2DM con elevado riesgo cardiovascular (n=32).

Todavía no están claros del todo los mecanismos específicos a través de los cuales el RES y otros polifenoles de la dieta pueden regular los niveles de los marcadores descritos arriba. Teniendo esto en cuenta, hemos realizado un intento de representar y concentrar la información más relevante existente sobre dichos mecanismos, y la hemos conjuntado en un diagrama ilustrativo con la información obtenida tras esta Tesis (**Figura 7.1**). La aterogénesis, inflamación y fibrinólisis, están directamente relacionadas con las ECV, asociándose con la activación focal de las células endoteliales por fosfolípidos producidos por la oxidación enzimática de LDL dentro y fuera de los vasos sanguíneos coronarios (Berg & Scherer, 2005, Hansson, 2005). Al principio, la activación endotelial recluta las plaquetas y expresa varios tipos de moléculas de adhesión de leucocitos favoreciendo la adhesión de células sanguíneas y la migración hacia espacios sub-endoteliales (Hansson, 2005). Cuando los monocitos son estimulados por citoquinas específicas, factores estimulantes de macrófagos (MSF), secretadas a partir de células de la túnica íntima de los vasos, se diferencian en macrófagos y luego en células espumosas.



**Figura 7.1.** Diagrama ilustrativo acerca de los mecanismos a través de los cuales el extracto de uva enriquecido en resveratrol (GE-RES) ejerce un efecto cardioprotector según los resultados obtenidos en esta Tesis en pacientes de prevención primaria y secundaria de riesgo cardiovascular. La información se conjunta con los mecanismos previamente descritos en ensayos preclínicos a través de los cuales el RES (y/o sus metabolitos) actúa. \*Resultados obtenidos con GE-RES en un modelo porcino (Azorin-Ortuño *et al.*, 2012a). ApoB, apolipoproteína B; eNOS, sintasa de óxido nítrico endotelial; FOXO-1, proteína *forkhead* 1; HDL, lipoproteínas de alta densidad; hsCRP, proteína C reactiva de alta sensibilidad; IL, interleuquina; LDL, lipoproteínas de baja densidad; miR, microARN; NO, óxido nítrico; PAI-1 inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; PBMC, células mononucleares de la sangre periférica; PPAR $\gamma$ , receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma; Sirt-1, sirtuína 1; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; tPA, activador del plasminógeno tisular.

## **Discusión General**

Las células espumosas liberan citoquinas pro-inflamatorias, proteasas y radicales libres de oxígeno citotóxicos, y activan el proceso inflamatorio junto con la formación de trombos, y todo ello se también se asocia con elevados niveles sistémicos de citoquinas proinflamatorias (IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8, hsCRP y sCD40) en el plasma (Veillard, *et al.*, 2004, Berg & Scherer, 2005). El equilibrio entre las respuestas inflamatorias y antiinflamatorias desempeña un papel importante en la formación de trombos y en la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, se ha sugerido un papel protector para la IL-10 en la aterosclerosis, la cual se produce en placas humanas avanzadas, y su expresión se asocia a la menor expresión de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) y a la disminución de la muerte celular (Mallat, *et al.*, 1999). Además, los niveles séricos de IL-10 pueden ser un importante factor pronóstico en pacientes con síndromes coronarios agudos, siendo menores en pacientes con la forma inestable de angina de pecho que en pacientes con la forma estable (Smith, *et al.*, 2001).

El tejido adiposo epicárdico (TAE) de las arterias coronarias también regula directamente la función vascular coronaria y la homeostasis debido a su proximidad anatómica secretando diversas citoquinas como adiponectina, leptina, resistina, apelina y PAI-1 (Iacobellis, *et al.*, 2005, Tilg & Moschen, 2006). Estudios recientes en TAE confirmaron el papel de diversas citoquinas proaterogénicas/proinflamatorias y ateroprotectoras/antiinflamatorias en la progresión de la EAC (Karastergiou, *et al.*, 2010). Tanto la adiponectina como el PAI-1 son dos importantes adipoquinas producidas por el TAE y presentan una relación inversa en muchos trastornos cardiovasculares y metabólicos (Bilgili, *et al.*, 2008). La adiponectina es una adipocitoquina sérica importante y clínicamente interesante, que regula positivamente el metabolismo de la glucosa y lípidos y tiene múltiples efectos antiinflamatorios (Zhu, *et al.*, 2008). Estudios epidemiológicos confirmaron los bajos niveles circulantes de

adiponectina en EAC (Nakamura, *et al.*, 2004, Antoniadou, *et al.*, 2009). La adiponectina participa *in vivo* en el aclaramiento de cuerpos celulares y vesículas de células apoptóticas uniéndose a ellos y promoviendo su fagocitosis por parte de los macrófagos, minimizando así la lesión tisular e inflamación (Gupta & Surolia, 2007, Takemura, *et al.*, 2007). La supresión de citoquinas inflamatorias dependiente de adiponectina está bien establecida en estudios *in vitro* e *in vivo* (Karastergiou, *et al.*, 2010, Zhou, *et al.*, 2011, Liu & Liu, 2012). Una alteración en el metabolismo del TAE conduce a un exceso de adipogénesis y regula una disminución en la expresión génica de adiponectina (Liu & Liu, 2012).

El tejido adiposo asociado con las arterias coronarias epicárdicas también contiene fibroblastos, preadipocitos y 5-10% de los macrófagos tisulares. Posibles alteraciones en el metabolismo de lípidos pueden estimular una excesiva infiltración de macrófagos derivados de monocitos, conduciendo a la acumulación de las partículas lipídicas y a la formación de células espumosas (Yudkin *et al.*; 2000). Estas últimas estimulan los adipocitos, regulando una reducción en la expresión de adiponectina así como un aumento de citoquinas tales como IL-6, TNF- $\alpha$ , PAI-1, CRP, entre otros, y muchos factores de transcripción (NF- $\kappa$ B, AP-1, JUN, ATF-2, CREB) (Yudkin, *et al.*, 2000). El PAI-1 es también una adipoquina y una proteína reguladora secretada por las plaquetas, tejido endotelial y adiposo, y participa en la cascada de coagulación (Samad & Loskutoff, 1996, Alessi, *et al.*, 1997). El PAI-1 es un regulador clave que determina la actividad de la fibrinólisis endógena y un inhibidor principal de la fibrinólisis (Pandey, *et al.*, 2005). Existen varias anomalías cardiovasculares y metabólicas que están asociadas con altos niveles de PAI-1, incluyendo la regulación del aumento de TNF- $\alpha$ , la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, y la reducción de la expresión de adiponectina (Pandey *et al.*, 2005). En los ensayos clínicos realizados en la presente

## Discusión General

Tesis Doctoral, se constató que el GE-RES contribuyó a una mejora en marcadores importantes en el perfil inflamatorio, fibrinolítico y aterogénico en plasma, como adiponectina, hsCRP, IL-10, TNF- $\alpha$ , PAI-1, ApoB y LDLox. En el caso de las LDL oxidadas, la disminución observada puede deberse a una reducción en la producción de ROS, llevando a un descenso en el estrés oxidativo y consecuentemente a una disminución en la oxidación de LDL. Por otro lado, la disminución en los niveles de LDLox puede deberse a una reducción en la densidad de las moléculas de LDL dificultando que las mismas se oxiden. No podemos saber si el consumo de RES por separado daría lugar a los mismos efectos, pero sí podemos decir que la presencia de este polifenol en el extracto de uva ejerció una modulación de estos marcadores más efectiva que el extracto de uva por separado, sugiriendo un papel relevante de esta molécula frente al resto de fenólicos de la uva. Estos resultados ilustran que esta intervención dietética conduce a una mejora en los niveles de biomarcadores circulantes y apuntan en el mismo sentido de estudios anteriores que demostraron que el RES modula el aumento de adiponectina y la disminución de PPAR $\gamma$  en adipocitos murinos (Picard, *et al.*, 2004, Subauste & Burant, 2007). En estos estudios en murinos se describió que esta modulación ocurría de manera dependiente de SIRT1/FOXO1, una de las principales rutas de señalización aparentemente activadas por el RES. La SIRT-1 cataliza la desacetilación de proteínas de manera dependiente de NAD<sup>+</sup>, una reacción catalítica de modulación metabólica crucial para prevenir la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados (Floyd *et al.*, 2008). La activación de FOXO1 inhibe la adipogénesis (Wang & Tong, 2009). En adipocitos murinos, se describió al RES como un regulador negativo del PPAR $\gamma$ , el cual se sabe que puede desempeñar un papel central en la adipogénesis y en la enfermedad vascular (Floyd, *et al.*, 2008).

La activación de la inflamación y la expresión de genes proinflamatorios en PBMC también se asocia con la patogénesis de la EAC. La evaluación combinada de marcadores circulantes relacionados con el riesgo de ECV y el perfil de expresión génica de PBMC ofrece un atractivo enfoque traslacional entre mecanismos moleculares y aplicaciones clínicas en pacientes con EAC. Teniendo esto en cuenta, en esta Tesis Doctoral, también se llevó a cabo un estudio de expresión génica en una subpoblación (constituida por un 100% de individuos varones, diabéticos e hipertensos) perteneciente al conjunto total de los 75 pacientes de PS participantes en uno de los ensayos clínicos realizados. Los resultados sugieren que el GE-RES reduce la inflamación y regula la disminución en la expresión de genes proinflamatorios en las PBMC de estos pacientes. En adipocitos 3T3-L1, el aumento en la producción del TNF- $\alpha$  induce directamente la síntesis y la liberación excesiva del PAI-1 en el TAE y aumenta los niveles del PAI-1 en plasma asociados con una disminución en la degradación de la fibrina y aumento en la trombosis (Pandey *et al.*, 2005). La estimulación aguda y crónica por TNF- $\alpha$  activa las rutas de señalización PKC, PI3K, MAPK y NF- $\kappa$ B, llevando a la inducción de la expresión del PAI-1 (Pandey *et al.*, 2005). El RES también puede inhibir la formación del PAI-1 inducida por TNF- $\alpha$  y la activación de la ruta NF- $\kappa$ B.

Los macrófagos son células inflamatorias importantes implicadas en la iniciación del proceso inflamatorio y de la patogénesis de muchas enfermedades como las cardiovasculares. La infiltración de macrófagos también es mayor en el TAE y en las arterias coronarias de pacientes con EAC. En un modelo murino, se describió que la amplificación de los factores de transcripción inflamatoria en PBMC conduce a la liberación de citoquinas inflamatorias (Coenen, *et al.*, 2009). El análisis bioinformático del ensayo de *microarrays* realizado en nuestro estudio, predijo un estado de

## **Discusión General**

activación/inhibición para 6 factores de transcripción relacionados con la respuesta inflamatoria: KLF-2, NF- $\kappa$ B, AP-1, c-Jun, ATF-2 y proteína de unión al CREB. Además, el estudio efectuado proporcionó evidencias preliminares de que, en las PBMC de pacientes de EAC, la suplementación diaria de GE-RES a largo plazo modula la expresión de varias citoquinas importantes y de una red de microARN (*miR*) involucrados en la respuesta inflamatoria, lo que sugiere un efecto beneficioso inmunomodulador para este suplemento.

Sin embargo, a pesar de todos efectos observados, una cuestión crítica que permanece sin resolver es saber cuál es el responsable último de estos efectos: ¿RES aglicona y/o metabolitos y/o otros mediadores...?

### **7.4. La paradoja del resveratrol**

En 2003, Goldberg y colaboradores señalaron que la gran cantidad de estudios sobre los efectos *in vitro* del RES aglicona podrían ser irrelevantes una vez que es absorbido y conjugado. Tal y como se ha descrito recientemente (Planas, *et al.*, 2012), la biodisponibilidad y distribución del RES están moduladas por los transportadores ABC (van de Wetering, *et al.*, 2009, Alfaras, *et al.*, 2010, Juan, *et al.*, 2010). Los enterocitos metabolizan rápidamente el RES para dar lugar a derivados glucurónidos y sulfatos, que son expulsados al lumen intestinal a través de las proteínas de membrana ABC. En este sentido, Azorín-Ortuño *et al.* (2011) acuñaron la expresión "Paradoja del resveratrol" para ilustrar la alta actividad ejercida por el RES a pesar de su baja biodisponibilidad. Esto dificulta enormemente i) la identificación del verdadero responsable de los efectos observados tras el consumo de RES y ii) la dosis más adecuada para lograr tales efectos (Scott *et al.*, 2012). Una aproximación lógica para



justificar los efectos es relacionar las concentraciones plasmática (o tisulares) del RES aglicona y/o sus metabolitos derivados con la actividad sistémica observada, asumiendo que estos deben interactuar directamente con una diana sistémica específica (Scott, *et al.*, 2012). Sin embargo, la asociación directa entre RES y/o sus metabolitos circulantes y su actividad biológica están lejos de ser demostradas *in vivo*. Por ejemplo, en personas, la FMD no mejoró proporcionalmente con la concentración de RES (Fujitaka, *et al.*, 2011, Wong, *et al.*, 2011, Magyar, *et al.*, 2012). Patel *et al.* (2010) no encontraron efectos significativos en el marcador de cáncer Ki-67 en pacientes con cáncer de colon cuando las dosis de RES (0,5 y 1 g) se analizaron por separado. Brown *et al.* (2010) describieron los efectos más altos sobre IGF-1 y IGFBP-3 circulantes con las dosis de 1 y 2,5 g de RES, mientras que la concentración más alta (5 g) no pudo ejercer los mismos efectos. Kennedy *et al.* (2010) describieron el aumento del flujo sanguíneo cerebral, de manera dosis-dependiente, aunque la función cognitiva de los voluntarios no cambió. Aunque obviamente, no se correlacionó con el perfil metabólico del RES en el cerebro, hay que recordar que la presencia de RES y derivados metabolitos en el cerebro es muy baja según estudios recientes llevados a cabo en el cerdo con una dosis equivalente al consumo de 500 mg RES en una persona de 70 kg (Azorín-Ortuño *et al.*, 2011). En los ensayos clínicos descritos en la presente Tesis se observó que el consumo del nutraceutico de uva GE-RES mejoró el perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico en pacientes sometidos a tratamiento farmacológico optimizado de acuerdo con las guías de prevención cardiovascular. Después de 6 meses de intervención, se duplicó la dosis durante 6 meses adicionales. Aunque, en general, se observó más efecto al duplicar la dosis, ni ocurrió en todos los marcadores, ni la mejora fue proporcional. No se detectaron metabolitos circulantes de RES en los pacientes tras la toma de sangre en ayunas, lo que sugiere que los efectos podrían ser ejercidos por una exposición baja

## Discusión General

pero crónica (repetitiva) a estos metabolitos (que no tienen por qué ser detectados en un punto de tiempo específico). Además, quizá otros mediadores, aún no identificados, podrían ser los responsables finales de los efectos observados. En otro estudio reciente, el consumo crónico del mismo nutracéutico previno estadios tempranos de aterosclerosis en cerdos alimentados con una dieta aterogénica (Azorín-Ortuño *et al.*, 2012a). Tampoco se detectaron metabolitos de RES u otros fenólicos de la uva circulantes. Sin embargo, hay que resaltar que se encontraron diversos metabolitos derivados de RES (pero no de otros fenólicos de la uva) en el tejido aórtico de cerdo. Sin embargo, no se pudo establecer una relación directa entre la presencia de estos metabolitos y la actividad observada en dicho tejido ya que la concentración de metabolitos fue similar en dos grupos (en los que consumieron solo RES y en GE-RES) mientras que los efectos de GE-RES en el tejido aórtico fueron más relevantes (Azorín-Ortuño *et al.*, 2012a). En la misma línea, existen una serie de publicaciones anteriores que apoyan los efectos antiinflamatorios sistémicos tras la administración oral de dosis bajas de RES (dosis equivalente en humanos a 10 mg para una persona de 70 kg) en ensayos con animales en los que no se detectaron metabolitos circulantes o se detectaron en concentración muy baja (Larrosa *et al.*, 2009; 2010).

La actividad biológica específica de metabolitos circulantes apenas se ha estudiado hasta fechas recientes debido a la falta de estándares adecuados (Calamini, *et al.*, 2010, Hoshino, *et al.*, 2010). En este sentido, Lasa *et al.* (2012) han dado un paso más allá sugiriendo un efecto hipolipemiante *in vitro* de algunos metabolitos de RES después de incubar pre-adipocitos de ratón con 25  $\mu\text{M}$  RES durante 24 horas. Desafortunadamente, no se conoce la disposición de RES en el tejido adiposo humano, y esta concentración de 25  $\mu\text{M}$  de metabolitos, algo elevada, aún no se ha detectado en tejido adiposo de animales después de la administración de cantidades elevadas de RES

(Azorín-Ortuño, *et al.*, 2011, Andrés-Lacueva, *et al.*, 2012). Azorín-Ortuño y colaboradores (2012a) describieron que 100 nM de RES o de su metabolito microbiano DH-RES disminuían los niveles de proteína de unión a los ácidos grasos tipo 4 (FABP4) en macrófagos expuestos a partículas de LDL oxidadas. Sin embargo, estos efectos no se observaron con sus correspondientes metabolitos glucurónidos. Estas concentraciones de RES o DH-RES a las que se observaron son alcanzables en plasma después de la ingesta de RES. Además, un hallazgo interesante fue la respuesta de tipo “hormético” detectada porque los efectos fueron menores cuando la concentración de RES fue mayor (Calabrese, *et al.*, 2010). De todas formas, se necesitan más evidencias *in vivo* para apoyar la teoría hormética del RES.

En general, la evaluación de efectos tras el consumo de RES puede ser un reto porque dependerá del efecto que se esté investigando, de la dosis administrada, del tiempo de exposición, etc. Parece que los efectos sobre la función endotelial (Magyar, *et al.*, 2012) y el metabolismo de la glucosa (Brasnyó, *et al.*, 2011) no requieren altas concentraciones (10 mg/día) ni seguimientos a largo plazo (de 1 a 3 meses). Por el contrario, efectos sobre marcadores inflamatorios y otros, así como la evaluación de parámetros de seguridad y de interacciones entre fármacos podrían requerir intervenciones más largas en el tiempo (varios meses o años) como hemos descrito en la presente Tesis.

## **7.5. Lecciones y limitaciones de los ensayos realizados.**

### **Perspectivas futuras**

Se han descrito beneficios para el RES en muchos estudios *in vitro* e *in vivo* (Vang, *et al.*, 2011). Sin embargo, todavía es escasa la evidencia sobre las propiedades

## **Discusión General**

cardioprotectoras en pacientes con enfermedades cardiovasculares. El ensayo clínico perfecto capaz de responder todas las posibles preguntas es utópico. Por ejemplo, surgen varias preguntas al buscar evidencias en cuanto a la eficacia y seguridad del RES en ensayos con personas: ¿Cuántos ensayos se necesitan para confirmar los efectos observados? ¿Cuáles son los marcadores o características más relevantes a evaluar en estos pacientes? ¿Cuál es el mejor criterio para establecer el tamaño de muestra y tiempo de seguimiento óptimos? ¿En los ensayos se abordan frecuentemente las cuestiones relativas a la seguridad?

Los ensayos realizados durante esta Tesis Doctoral son los más largos hasta la fecha con un producto que contiene RES, tanto en pacientes con alto riesgo de ECV como en pacientes con cardiopatía establecida (EAC estable). Mientras que otros estudios clínicos han tenido seguimientos más cortos (hasta 3 meses), nuestros ensayos tuvieron un seguimiento de un año. Además, los voluntarios fueron pacientes tratados según las guías aceptadas para la prevención de ECV, lo cual fue importante para evaluar no sólo los posibles beneficios adicionales de un nutracéutico como complemento a la medicación estándar de los pacientes, sino también para evaluar posibles interacciones con fármacos y los efectos adversos en estos pacientes polimedcados. En general, consideramos que los resultados obtenidos han sido muy prometedores y han permitido cubrir algunos interrogantes no abordados previamente. Sin embargo, pese a la mejora del perfil inflamatorio, aterogénico y fibrinolítico de estos pacientes y a la ausencia de interacciones o efectos adversos, hay que destacar que son necesarios mayores tamaños muestrales y un mayor tiempo de seguimiento para evaluar una posible repercusión clínica. Este es el punto clave: resultados estadísticamente significativos, obtenidos en biomarcadores relacionados con el riesgo de ECV, no se traducen necesariamente en resultados clínicamente relevantes. O dicho

de otra forma: ¿Qué se espera del RES ¿Un fármaco multidiario o una molécula dietética presente en nutracéuticos que contribuyen a la prevención de enfermedades o a mejorar la eficacia de los tratamientos médicos? Y estas preguntas podrían ser extrapolables para muchas de las moléculas o complementos alimenticios investigados.

En general, vista través de una intervención dietética, el verdadero desafío es cuantificar la “cantidad” de prevención alcanzada, especialmente en personas sanas. ¿Cómo debe medirse? Las moléculas dietéticas ejercen una bioactividad relativamente baja en comparación con los fármacos convencionales, por lo tanto es razonable esperar que sus efectos se produzcan a largo plazo tras un consumo regular de dosis bajas (exposición crónica). En general, se espera que estos efectos sean "bajos o moderados", lo que dificulta enormemente la cuantificación en términos de mecanismos y cambios (significativos) fácilmente medibles. Esto es importante porque el concepto de prevención no está necesariamente asociado a la disminución de los llamados marcadores de riesgo de ECV. Estos marcadores de riesgo como hsCRP, TNF- $\alpha$ , cLDL y muchos otros son esenciales en la homeostasis del organismo y sus niveles deben oscilar dentro de rangos normales. El objetivo, para las personas en un estado normal/sano, debería consistir en evitar que ocurriesen alteraciones en los niveles de marcadores de riesgo respecto a los rangos considerados normales y no simplemente en perseguir la disminución dichos niveles (lo cual no tiene por qué ser necesariamente beneficioso). Solamente cuando estos niveles se ven alterados de forma remarcable (generalmente elevados) donde tiene sentido devolver sus niveles a rangos normales/controlados. Recientemente, se ha descrito, en dos ensayos, una ausencia de efectos en personas sanas después de la suplementación con RES a corto plazo (Poulsen, *et al.*, 2012, Yoshino, *et al.*, 2012). Estas observaciones concuerdan con las consideraciones mencionadas arriba en el sentido de que no se deben de esperar o

## *Discusión General*

intentar producir cambios en el estado saludable (homeostático) de estos individuos, ya que incluso el forzar a cambiar los niveles normales de estos marcadores en personas sanas podría ser contraproducente. Otra cosa es tener como objetivo mantener el estado homeostático o, en otras palabras, evitar la alteración de estos marcadores, aunque parece obvio que evaluar este efecto preventivo requeriría un seguimiento muy largo (¿Años? ¿Décadas?), muy lejos de los seguimientos normalmente realizados en ensayos con personas sanas (pocos meses).

Desde un punto de vista clínico, el futuro como posible fármaco del RES y de otras muchas moléculas de la dieta, no está claro. En el caso del RES, el amplio espectro de actividades descrito podría ser incluso otro inconveniente, paradójico, para esta molécula. Tal vez haya demasiadas indicaciones posibles para esta molécula (cáncer, inflamación, estrés oxidativo, cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas, envejecimiento, etc.). Además, la industria farmacéutica no financia la realización de grandes ensayos multicéntricos con moléculas, como es el caso del RES, que no están protegidas por patente. Lo que es susceptible de financiación privada son ensayos con análogos de RES modificados o con formulaciones específicas patentadas. En el ensayo de cualquier producto es esencial averiguar el papel que ejercen las moléculas o fracciones más relevantes que componen dicho producto. En el caso del RES, es necesario conocer la concentración apropiada para ejercer beneficios sin efectos secundarios tras una exposición a largo plazo, especialmente en personas medicadas. Por ejemplo, las altas dosis de RES y otras moléculas, como frecuentemente se han utilizado en ensayos a corto plazo, podrían afectar la biodisponibilidad de las estatinas. Se sabe que la biodisponibilidad de las estatinas puede verse afectada por las isoenzimas del citocromo P450 (CYP), incluyendo CYP3A4, junto con transportadores de absorción y eflujo que afectan la

disponibilidad de estos fármacos (Willrich, *et al.*, 2009). Altas dosis de RES pueden inhibir las CYP e interactuar con estos transportadores (Chow, *et al.*, 2010, Planas, *et al.*, 2012), lo cual podría modificar el metabolismo de las estatinas, provocando efectos adversos importantes. Por lo tanto, las personas bajo tratamiento médico (no sólo aquellas con enfermedad establecida, sino también todas aquellas en tratamiento preventivo o con una enfermedad moderada) deben saber que el consumo diario de altas dosis de RES (cientos de miligramos a gramos) durante largos períodos de tiempo podría ser perjudicial. No está demostrada su inocuidad y por defecto, debería evitarse. De hecho, este razonamiento también es válido para la mayoría de los preparados derivados de plantas comúnmente consumidos sin ningún tipo de control. La interacción de diversos constituyentes de alimentos o plantas con fármacos no es rara, e incluso se podría decir que es frecuente.

Se sabe que a pesar del uso de terapias hipolipemiantes, algunos pacientes experimentan eventos cardiovasculares. Recientemente, el ensayo AIM-HIGH (*Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome With Low HDL/High Triglycerides: Impact on Global Health Outcomes*) no encontró ningún beneficio cardiovascular en pacientes con cardiopatía establecida y tratados con estatinas, tras consumir ácido nicotínico (niacina). De hecho, aunque no fue estadísticamente significativa, hubo una tendencia hacia un mayor riesgo de ictus isquémico (The AIM-HIGH Investigators, 2011). A pesar de existir un debate actual sobre estos resultados (Nicholls, 2012, Gouni-Berthold & Berthold, 2013), ya se han retirado del mercado, por seguridad, algunas formulaciones basadas en niacina que se utilizaban en la PP y PS de ECV. En el caso de los fibratos, que están principalmente indicados para pacientes con resistencia a las estatinas o hipertrigliceridemia aislada o como complemento de otros tratamientos hipolipemiantes (Berglund & *et al.*, 2012), tampoco están exentos de

## **Discusión General**

efectos adversos como miopatía, creatinina sérica incrementada y colelitiasis (Chapman & et al., 2011). Teniendo en cuenta todo lo anterior, las estatinas siguen estando en la primera línea de selección para el tratamiento clínico del exceso de lípidos en la sangre, y es esencial continuar la búsqueda de estrategias preventivas y terapéuticas complementarias en la ECV.

Hasta la fecha, la falta de evidencia clínica-científica sólida ha provocado un escepticismo generalizado en muchos cardiólogos con respecto a los efectos cardioprotectores descritos en diversos ensayos con moléculas dietéticas específicas o concentrados derivados de alimentos. Sin embargo, en varios estudios con cohortes numerosas, los cardiólogos se dieron cuenta que el porcentaje de disminución en las muertes por EAC atribuida a cambios en factores de riesgo mediante la implementación de estilos de vida saludables, incluyendo la dieta, era superior al porcentaje atribuido a tratamientos específicos (Di Chiara & Vanuzzo, 2009). Según los ensayos clínicos realizados hasta la fecha en pacientes de prevención de ECV, el RES podría ejercer una cardioprotección mejorando el perfil inflamatorio, fibrinolítico y aterogénico, el metabolismo de la glucosa, y la función endotelial. No obstante, los mecanismos específicos relacionados con estos efectos y las dosis necesarias para lograr una relación beneficio/riesgo óptima no se han establecido claramente hasta ahora. Además, se desconoce el(los) verdadero(s) responsable(s) de los efectos. Por tanto, debería fomentarse la investigación enfocada a la identificación de los verdaderos responsables de estos efectos, no sólo metabolitos directamente relacionados con RES u otra molécula de la dieta, sino también ampliar la búsqueda a posibles señales o mediadores. En este sentido, teniendo en cuenta los efectos observados y la aparente falta de relación con la concentración de metabolitos, otras hipótesis no pueden descartarse y, tal vez, debiésemos mirar en otras direcciones, como por ejemplo la estimulación sensorial de



neuronas en el tracto gastrointestinal y el desencadenamiento de cascadas de señalización a través de otros intermediarios (Harada, *et al.*, 2011). Además, todavía no están claros todos los mecanismos específicos a través de los cuales ocurren los efectos beneficiosos descritos arriba. Aun teniendo esto en cuenta, hemos realizado un intento de representar y concentrar la información previa existente sobre dichos mecanismos en personas y aquella generada a lo largo de la ejecución del trabajo aquí presentado, en un diagrama ilustrativo (**Figura 7.1**). De todas formas, recalcamos que hacen falta más ensayos para confirmar los efectos y mecanismos descritos.

En general, se necesitan más ensayos a largo plazo para descartar efectos adversos o interacciones entre fármacos al usar concentraciones más altas de RES de las usadas en nuestros ensayos con especial atención a las personas medicadas (asintomáticas o con ECV establecida). También se puede plantear que quizá los efectos de esta intervención dietética hubieran sido mayores en grupos de personas con niveles de marcadores de riesgo moderadamente alterados, sin enfermedad establecida, y sin tratamiento farmacológico. Probablemente, sin haber realizado dichos estudios y con la información recopilada en esta Tesis, creemos que la respuesta sería afirmativa. Sin embargo, realizar un seguimiento de un año en estas personas, al borde de necesitar tratamiento, y mantenerse en este límite durante un año, es algo realmente difícil. Por otro lado, tampoco se habría contemplado la cuestión importante de si habrían existido efectos adversos relacionados con los fármacos. Ciertamente, una intervención dietética en pacientes sometidos a un tratamiento farmacológico optimizado es un escenario mucho más complejo donde el margen para ejercer un efecto es mucho más reducido que en ausencia de medicación. La evidencia disponible indica que este tipo de productos, incluyendo aquellos que contienen RES, podría ser útil para el control de factores de riesgo y como coadyuvante de tratamientos médicos. Sin embargo, todos los

## **Discusión General**

productos que contienen RES deben tener demostrada su eficacia y seguridad antes de poder recomendar su consumo en pacientes medicados.

Considerando todo lo anterior, en la presente Tesis Doctoral hemos demostrado que el consumo diario, durante un año, de un nutraceútico de uva que contiene una baja dosis de RES contribuye a la prevención cardiovascular y complementa su tratamiento, sin efectos adversos, en pacientes polimedicados de alto riesgo.

# **CAPÍTULO 8**

## ***Conclusiones Generales***



## **8. Conclusiones generales**

Los ensayos clínicos realizados durante la presente Tesis Doctoral han sido los más largos descritos hasta la fecha en personas usando un complemento que contiene resveratrol, y han permitido obtener las siguientes conclusiones:

**Primera:** El consumo diario, durante un año, de un extracto de uva enriquecido en dosis dietéticas de resveratrol mejoró el perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico en pacientes con alto riesgo cardiovascular y que ya estaban sometidos a un tratamiento farmacológico optimizado de acuerdo a las guías establecidas para prevención primaria de riesgo cardiovascular. Entre los marcadores aterogénicos cabe destacar la disminución de la ApoB y la fracción oxidada de LDLcolesterol, lo cual puede suponer un apoyo importante en el seguimiento clínico de pacientes que a pesar de obtener concentraciones LDL optimizadas, siguen presentando riesgo residual. Entre los marcadores inflamatorios y fibrinolíticos, cabe destacar, entre otros, la reducción importante de hsCRP, y PAI-1, ambos relacionados con un peor pronóstico en estos pacientes.

**Segunda:** El consumo diario, durante un año, de este extracto de uva enriquecido en resveratrol también mejoró el perfil aterogénico, inflamatorio y fibrinolítico en pacientes con enfermedad arterial coronaria estable, que también estaban tratados farmacológicamente de forma óptima de acuerdo a las guías de prevención secundaria por el serio riesgo de recurrencia de eventos cardiovasculares. Los efectos más remarcables se correlacionaron con un aumento de la citoquina anti-inflamatoria

adiponectina y con un descenso de la fracción aterogénica no-HDL y del marcador de riesgo de trombosis PAI-1.

**Tercera:** En una subpoblación de pacientes diabéticos e hipertensos en prevención secundaria de riesgo cardiovascular, el consumo de este complemento mejoró el perfil de expresión de genes y microRNA en células mononucleares de sangre periférica. Los cambios inducidos se relacionan con una inhibición en procesos de señalización en el proceso aterotrombótico. Por tanto, los mecanismos de acción de este complemento están en parte relacionados con un efecto inmunomodulador protector, reduciendo la proliferación de una red de señales proinflamatorias en estas células.

**Cuarta:** En ambos ensayos clínicos, ningún paciente experimentó efectos adversos relacionados con la ingesta de los productos objeto de estudio. Tanto en pacientes de prevención primaria como secundaria de riesgo cardiovascular, se realizó una amplia batería analítica que también descartó efectos adversos en la serie hematológica y funciones hepática, tiroidea y renal de estos pacientes.

**Quinta:** Nuestros resultados reflejan que el resveratrol es parte esencial del extracto de uva para ejercer los efectos observados, pero parece que estos se deben más a la asociación del resveratrol con otros fenólicos de la uva, y donde además, tampoco se puede descartar una posible sinergia con la medicación de estos pacientes. El consumo crónico de dosis dietéticas dificulta el poder establecer una relación directa entre los efectos observados y las formas metabólicas circulantes específicas de polifenoles en general, y de resveratrol en particular. En este sentido, hace falta mucha más investigación para identificar al verdadero responsable de los efectos finales. Nuestros resultados no avalan la necesidad de consumir altas concentraciones de

## **Conclusiones Generales**

resveratrol cuya seguridad no ha sido evaluada a largo plazo y menos aún en pacientes poli-medicados.

**Conclusión Global:** Considerando la dimensión del problema que suponen las enfermedades cardiovasculares, resulta esencial la búsqueda de tratamientos complementarios para su prevención. La serie de pacientes recogida en esta Tesis refleja el día a día de la consulta de cardiología clínica lo cual facilita la extrapolación de los resultados obtenidos. Estos resultados avalan que este suplemento contribuye a la prevención cardiovascular y complementa su tratamiento, sin efectos adversos. Por tanto, consideramos que este desarrollo es un importante avance en la prevención del riesgo cardiovascular a través de un tratamiento no farmacológico, pero recordando que en ningún caso pretende sustituir o reducir la dosis de fármacos prescritos.

Aunque consideramos que esta Tesis ha podido responder en gran medida al difícil reto planteado en sus objetivos iniciales, sin embargo, hay que recordar que la mejora, “estadísticamente significativa”, de marcadores de riesgo no implica necesariamente que esta mejora también sea “clínicamente significativa”. Por tanto, el siguiente reto planteado será evaluar si el consumo de este suplemento, como coadyuvante en la medicación estándar de pacientes con riesgo cardiovascular, reduce la incidencia de muerte por esta causa. Para esto, se están sentando ya las bases para un ensayo multicéntrico, en diversos hospitales de España y Europa con un seguimiento medio de 5 años en un millar de pacientes.





# CAPÍTULO 9

*Bibliografía*



## CAPÍTULO 9

### 9. Bibliografía

- Acevedo M, Foody JM, Pearce GL & Sprecher DL (2002) Fibrinogen: associations with cardiovascular events in an outpatient clinic. *Am Heart J* **143**: 277-282.
- Adeli K (2011) Translational control mechanisms in metabolic regulation: critical role of RNA binding proteins, microRNAs, and cytoplasmic RNA granules. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* **301**: E1051-1064.
- Afshar-Kharghan V & Thiagarajan P (2006) Leukocyte adhesion and thrombosis. *Curr Opin Hematol* **13**: 34-39.
- Akar F, Pektas MB, Tufan C, Soylemez S & et al. (2011) Resveratrol shows vasoprotective effect reducing oxidative stress without affecting metabolic disturbances in insulin-dependent diabetes of rabbits. *Cardiovasc Drugs Ther* **25**: 119-131.
- Akar F, Uludağ O, Aydın A, Aytekin YA & et al. (2012) High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol* **50**: 2135-2141.
- Al-Dissi AN & Weber LP (2011) Resveratrol preserves cardiac function, but does not prevent endothelial dysfunction or pulmonary inflammation after environmental tobacco smoke exposure. *Food Chem Toxicol* **49**: 1584-1591.
- Albert MA, Danielson E, Rifai N & Ridker PM (2001) Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* **286**: 64-70.
- Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G & Juhan-Vague I (1997) Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes* **46**: 860-867.
- Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, Singh J, Alaveras A & Kalofoutis A (2006) Inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1084**: 89-117.
- Alfaras I, Pérez M, Juan ME, Merino G & et al. (2010) Involvement of breast cancer resistance protein (BCRP1/ABCG2) in the bioavailability and tissue distribution of trans-resveratrol in knockout mice. *J Agric Food Chem* **58**: 4523-4528.
- Alkhalaf M & Jaffal S (2006) Potent antiproliferative effects of resveratrol on human osteosarcoma SJSA1 cells: Novel cellular mechanisms involving the ERKs/p53 cascade. *Free Radic Biol Med* **41**: 318-325.
- Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcão A, Soares E & et al. (2009) Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res* **53**: S7-15.

## **Bibliografía**

- Alturfan AA, Tozan-Beceran A, Sehirli AO, Demiralp E & et al. (2012) Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Mol Biol Rep* **39**: 4589-4596.
- Alvarez-Sala Walther A, Torres do Rego A, Pedro-Botet Montoya JC & Millán Nuñez-Cortés J (2009) Factores de riesgo y enfermedad cardiovascular en España. *Coceptos actuales en dislipemia y riesgo vascular*,(García Puig J & Martínez Hernández PL, ed.^eds.), p.^pp. 29-45. Farmalia Communication, Madrid.
- Andersson J, Libby P & Hansson GK (2010) Adaptive immunity and atherosclerosis. *Clin Immunol* **134**: 33-46.
- Andoh A, Bamba S, Fujiyama Y, Brittan M & Wright NA (2005) Colonic subepithelial myofibroblasts in mucosal inflammation and repair: contribution of bone marrow-derived stem cells to the gut regenerative response. *J Gastroenterol* **40**: 1089-1099.
- Andrés-Lacueva C, Macarulla MT, Rotches-Ribalta M, Boto-Ordóñez M & et al. (2012) Distribution of resveratrol metabolites in liver, adipose tissue, and skeletal muscle in rats fed different doses of this polyphenol. *J Agric Food Chem* **60**: 4833-4840.
- Anguera I, Miranda-Guardiola F, Bosch X, et al. (2002) Elevation of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 and decreased risk of coronary events in patients with unstable angina. *Am Heart J* **144**: 811-817.
- Annabi B, Lord-Dufour S, Vézina A & Béliveau R (2012) Resveratrol Targeting of Carcinogen-Induced Brain Endothelial Cell Inflammation Biomarkers MMP-9 and COX-2 is Sirt1-Independent. *Drug Target Insights* **6**: 1-11.
- Annilo T, Kepp K & Laan M (2009) Natural antisense transcript of natriuretic peptide precursor A (NPPA): structural organization and modulation of NPPA expression. *BMC Mol Biol* **10**: 81.
- Antoniades C, Antonopoulos AS, Tousoulis D & Stefanadis C (2009) Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease. *Obes Rev* **10**: 269-279.
- Apostolaki M, Armaka M, Victorator P & Kollias G (2010) Cellular mechanism of TNF function in models of inflammation and autoimmunity. *Curr Dir Autoimmun* **11**: 1-26.
- Arakawa R, Bagashev A, Song L, Maurer K & Sullivan KE (2010) Characterization of LRRFIPI. *Biochemistry and Cell Biology* **88**: 899-906.
- Arroyo AG & Iruela-Arispe M (2010) Extracellular matriz, inflammation, and the angiogenic response. *Cardiovascular Research* **86**: 226-235.
- Asensi M, Medina I, Ortega A, Carretero J, Baño MC, Obrador E & Estrela JM (2002) Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radic Biol Med* **33**.
- Avogaro A, de Kreutzenberg SV & Fadini GP (2002) Oxidative stress and vascular disease in diabetes: is the dichotomization of insulin signaling still valid? *Free Radic Biol Med* **44**: 1209-1215.
- Aziz MH, Nihal M, Fu VX, Jarrard DF & et al. (2006) Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. *Mol Cancer Ther* **5**: 1335-1341.
- Azorín-Ortuño M, Yáñez-Gascón MJ, Vallejo F, Pallarés FJ & et al. (2011) Metabolites and tissue distribution of resveratrol in the pig. *Mol Nutr Food Res* **55**: 1154-1168.

- Azorín-Ortuño M, Yañez-Gascón MJ, Pallarés FJ, Rivera J & et al. (2012a) A dietary resveratrol-rich grape extract prevents the developing of atherosclerotic lesions in the aorta of pigs fed an atherogenic diet. *J Agric Food Chem* **60**: 5609-5620.
- Azorín-Ortuño M, Yañez-Gascón MJ, González-Sarriás A, Larrosa M & et al. (2012b) Effects of long-term consumption of low doses of resveratrol on diet-induced mild hypercholesterolemia in pigs: a transcriptomic approach to disease prevention. *J Nutr Biochem* **23**: 829-837.
- Azorín-Ortuño M, Yañez-Gascón MJ, Pallarés FJ, Vallejo F & et al. (2010) Pharmacokinetic study of trans-resveratrol in adult pigs. *J Agric Food Chem* **58**: 11165-11171.
- Baderschneider B & Winterhalter P (2000) Isolation and characterization of novel stilbene derivatives from Riesling wine. *J Agric Food Chem* **48**: 2681-2686.
- Badimon L, Vilahur G & Padro T (2010) Nutraceuticals and atherosclerosis: human trials. *Cardiovasc Ther* **28**: 202-215.
- Badimón L, Vilahur G & Padró T (2009) Lipoproteínas, plaquetas y aterotrombosis. *Medicina Cardiovascular transaccional* **62**: 1161-1178.
- Bagul PK, Middela H, Matapally S, Padiya R & et al. (2012) Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacol Res* **66**: 260-268.
- Bai Y, Mao QQ, Qin J, Zheng XY & et al. (2010) Resveratrol induces apoptosis and cell cycle arrest of human T24 bladder cancer cells in vitro and inhibits tumor growth in vivo. *Cancer Sci* **101**: 488-493.
- Banegas JR, López-García E, Dallongeville J, et al. (2011) Achievement of treatment goals for primary prevention of cardiovascular disease in clinical practice across Europe: the EURIKA study. *Eur Heart J* **32**: 2143-2152.
- Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK & Raha S (2010) Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. *PLoS One* **5**: e8719.
- Banerjee S, Bueso-Ramos C & Aggarwal BB (2002) Suppression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: Role of nuclear factor-kappa B, cyclooxygenase 2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Res* **62**: 4945-4954.
- Bar-Joseph Z, Gitter A & Simon I (2012) Studying and modelling dynamic biological processes using time-series gene expression data. *Nature Reviews Genetics* **13**: 552-564.
- Barseghian A, Gawande D & Bajaj M (2011) Adiponectin and vulnerable atherosclerotic plaques. *J Am Coll Cardiol* **57**: 761-770.
- Bath PM & Butterworth RJ (1996) Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* **7**: 157-161.
- Baur JA & Sinclair DA (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Rev Drug Discov* **5**: 493-506.
- Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A & et al. (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* **444**: 337-342.
- Behbahani J, Thandapilly SJ, Louis XL, Huang Y & et al. (2010) Resveratrol and small artery compliance and remodeling in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* **23**: 1273-1278.

## **Bibliografia**

- Belalcazar LM, Ballantyne CM, Lang W, Group LAfHiDR & et al. (2011) Look action for health in diabetes research group. Metabolic factors, adipose tissue, and plasminogen activator inhibitor-1 levels in type 2 diabetes: findings from the Look AHEAD study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **31**: 1689-1695.
- Benagiano M, Azzurri A, Ciervo A, Amedei A, Tamburini C, Ferrari M & et al. (2003) T helper type 1 lymphocytes drive inflammation in human atherosclerotic lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**: 6658-6663.
- Benitez DA, Pozo-Guisado E, Alvarez-Barrientos A, Fernandez-Salguero PM & et al. (2007) Mechanisms involved in resveratrol-induced apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer-derived cell lines. *J Androl* **28**: 282-293.
- Berberoglu Z, GURSOY A, Bayraktar N, Yazici AC, Bascil Tutuncu N & GUVENER DEMIRAG N (2007) Rosiglitazone decreases serum bone-specific alkaline phosphatase activity in postmenopausal diabetic women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **92**: 3523-3530.
- Berg AH & Scherer PE (2005) Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* **96**: 939-949.
- Berglund L & et al. (2012) Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* **97**: 2969-2989.
- Bernstein LE, Berry J, Kim S, Canavan B & Grinspoon SK (2006) Effects of etanercept in patients with the metabolic syndrome. *Arch Intern Med* **166**: 902-908.
- Bertelli A, Bertelli AA, Gozzini A & Giovannini L (1998) Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity. *Drugs Exp Clin Res* **24**: 133-138.
- Bertelli AA, Giovannini L, Giannessi D, Migliori M, Bernini W, Fregoni M & Bertelli A (1995) Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *Int J Tissue React* **17**.
- Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S, Bueso-Ramos C & et al. (2007) Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB-regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. *Blood* **109**: 2293-2302.
- Bhatt JK, Thomas S & Nanjan MJ (2012) Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res* **32**: 537-541.
- Bhatt SR, Lokhandwala MF & Banday AA (2011) Resveratrol prevents endothelial nitric oxide synthase uncoupling and attenuates development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* **667**: 258-264.
- Bhupathiraju SN & Tucker KL (2011) Coronary heart disease prevention: nutrients, foods, and dietary patterns. *Clin Chim Acta* **412**: 1493-1514.
- Biala A, Tauriainen E, Siltanen A, Shi J & et al. (2010) Resveratrol induces mitochondrial biogenesis and ameliorates Ang II-induced cardiac remodeling in transgenic rats harboring human renin and angiotensinogen genes. *Blood Press* **19**: 196-205.
- Bilgili S, Celebiler AC, Dogan A & Karaca B (2008) Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients. *Endocr Regul* **42**: 63-68.

- Biosystems A (2008) Guide to Performing Relative Quantitation of Gene Expression Using Real-Time Quantitative PCR. ed.^eds.), p.^pp.
- Bisoendial RJ, Boekholdt SM, Vergeer M, Stroes ES & Kastelein JJ (2010) C-reactive protein is a mediator of cardiovascular disease. *Eur Heart J* **31**: 2087-2091.
- Bjørbaek C, El-Haschimi K, Frantz JD & Flier JS (1999) The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem* **274**: 30059-30065.
- Bladé C, Baselga-Escudero L, M.J. S & Arola-Arnal A (2013) miRNAs, polyphenols, and chronic disease. *Molecular Nutrition and Food Research* **57**: 58-70.
- Blake GJ & Ridker PM (2002) Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. *J Intern Med* **252**: 283-294.
- Blankenberg S & Yusuf S (2006) The inflammatory hypothesis: any progress in risk stratification and therapeutic targets? *Circulation* **114**: 1557-1560.
- Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L & Meyer J (2001) Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* **104**: 1336-1342.
- Blankenberg S, Luc G, Ducimetière P, et al. (2003) PRIME Study Group. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation* **108**: 2453-2459.
- Blesch A, Bosserhoff AK, Apfel R, Behl C, Hessdoerfer B, Schmitt A & et al. (1994) Cloning of a novel malignant melanoma-derived growth-regulatory protein, MIA. *Cancer Res* **54**: 5695-5701.
- Bo S, G. C, Castiglione A, Gambino R & et al. (2012) Anti-inflammatory and Antioxidant Effects of Resveratrol in Healthy Smokers. *Curr Med Chem*.
- Bode LM, Bunzel D, Huch M, Cho GS & et al. (2013) In vivo and in vitro metabolism of trans-resveratrol by human gut microbiota. *Am J Clin Nutr* **97**: 295-309.
- Boocock DJ, Patel KR, Faust GE, Normolle DP & et al. (2007a) Quantitation of trans-resveratrol and detection of its metabolites in human plasma and urine by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **848**: 182-187.
- Boocock DJ, Faust GE, Patel KR, Schinas AM & et al. (2007b) Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**: 1246-1252.
- Boudonas GE (2010)  $\beta$ -Blockers in coronary artery disease management. *Hippokratia* **14**: 231-235.
- Bournival J, Quessy P & Martinoli MG (2009) Protective effects of resveratrol and quercetin against MPP<sup>+</sup> -induced oxidative stress act by modulating markers of apoptotic death in dopaminergic neurons. *Cell Mol Neurobiol* **29**: 1169-1180.
- Bove K, Lincoln DW & Tsan MF (2002) Effect of resveratrol on growth of 4T1 breast cancer cells in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* **291**: 1001-1005.
- Bradamante S, Barenghi L & Villa A (2004) Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev* **22**: 169-188.
- Bradley J (2008) TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol* **214**: 149-160.

## **Bibliografía**

- Brasnó P, Molnár GA, Mohás M, Markó L & et al. (2011) Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br J Nutr* **106**: 383-389.
- Braunwald E (2012) Creating controversy where none exists: the important role of C-reactive protein in the CARE, AFCAPS/TexCAPS, PROVE IT, REVERSAL, A to Z, JUPITER, HEART PROTECTION, and ASCOT trials. *Eur Heart J* **33**: 430-432.
- Brigstock DR (2002) Regulation of angiogenesis and endothelial cell function by connective tissue growth factor (CTGF) and cysteine-rich 61 (CYR61). *Angiogenesis* **5**: 153-165.
- Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M, Crowell JA & et al. (2010) Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. *Cancer Res* **70**: 9003-9011.
- Bujak M & Frangogiannis NG (2009) The role of interleukin-1 in the pathogenesis of heart disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* **57**: 165-176.
- Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M & et al. (2008) Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterol* **8**: 40.
- Buonocore D, Lazzeretti A, Tocabens P, Nobile V & et al. (2012) Resveratrol-procyanidin blend: nutraceutical and antiaging efficacy evaluated in a placebocontrolled, double-blind study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* **5**: 159-165.
- Burgess TA, Robich MP, Chu LM, Bianchi C & Sellke FW (2011) Improving glucose metabolism with resveratrol in a swine model of metabolic syndrome through alteration of signaling pathways in the liver and skeletal muscle. *Archives Surgery* **146**: 556-564.
- Burgos-Alves MI, Avilés-Plaza F, Martínez-Tomás R, Sánchez-Campillo M & et al. (2010) Oxidized LDL and its correlation with lipid profile and oxidative stress biomarkers in young healthy Spanish subjects. *J Physiol Biochem* **66**: 221-227.
- Burkon A & Somoza V (2008) Quantification of free and protein-bound trans-resveratrol metabolites and identification of trans-resveratrol-C/O-conjugated diglucuronides - two novel resveratrol metabolites in human plasma. *Mol Nutr Food Res* **52**: 549-557.
- Burns J, Gardner PT, Yokota T, Ashihara H, Lean ME & Crozier A (2002) Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J Agric Food Chem* **50**: 3337-3340.
- Byrd AE, Aragon IV & Brewer JW (2012) MicroRNA-30c-2\* limits expression of proadaptive factor XBP1 in the unfolded protein response. *Journal of Cell Biology* **196**: 689-698.
- Cachofeiro-Ramos V, Sanz-Rosa D, de las Heras-Jiménez N, Cediel-Gil E, Miana-Ortega M & Lahera-Juliá V (2004) Inflamación, disfunción endotelial e hipertensión arterial. *Hipertensión* **21**: 347-354.
- Calabrese EJ, Mattson MP & Calabrese V (2010) Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. *Hum Exp Toxicol* **29**: 980-1015.
- Calamini B, Ratia K, Malkowski MG, Cuendet M & et al. (2010) Pleiotropic mechanisms facilitated by resveratrol and its metabolites. *Biochem J* **42**: 273-282.
- Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, Bentley JH & Braunwald E (2001) Association of white blood cell count with increased mortality in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. OPUS-TIMI 16 Investigators. *Am J Cardiol* **87**: 636-639.



- Cantos E, Espín JC & Tomás-Barberán FA (2001) Postharvest induction modeling method using irradiation pulses for obtaining resveratrol-enrichment table grapes: a new 'functional' fruit? *J Agric Food Chem* **49**.
- Cantos E, Espín JC & Tomás-Barberán FA (2002a) Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. *J Agric Food Chem* **50**: 6322-6329
- Cantos E, Espín JC & Tomás-Barberán FA (2002b) Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. *J Agric Food Chem* **50**: 5691-5696.
- Cantos E, García-Viguera C, de Pascual-Teresa S & Tomás-Barberán FA (2000) Effect of postharvest UV irradiation on resveratrol and other phenolics of 'Napoleon' table grapes. *J Agric Food Chem* **48**: 4606-4612.
- Cantos E, Tomás-Barberán FA, Martínez A & Espín JC (2003a) Differential stilbene induction susceptibility of seven red wine grape varieties upon postharvest UV-C irradiation. *Eur Food Res Technol* **217**: 253-258.
- Cantos E, Espín JC, Fernández MJ, Oliva J & Tomás-Barberán FA (2003b) Postharvest UV-C Irradiated Grapes as Potential Source for Producing Stilbene-Enriched Red Wines. *J Agric Food Chem* **51**: 1208-1214.
- Capewell S, Morrison CE & McMurray JJ (1999) Contribution of modern cardiovascular treatment and risk factor changes to the decline in coronary heart disease mortality in Scotland between 1975 and 1994. *Heart* **81**: 380-386.
- Carbajal EV & Deedwania P (2011) Role of medical versus interventional strategies to prevent coronary events in patients with stable coronary artery disease. *Cardiol Clin* **29**: 157-165.
- Carbó N, Costelli P, Baccino FM, López-Soriano FJ & et al. (1999) Resveratrol, a natural product present in wine, decreases tumour growth in a rat tumour model. *Biochem Biophys Res Commun* **254**: 739-743.
- Castilla P, Dávalos A, Teruel JL, Cerrato F, Fernández-Lucas M & et al. (2008) Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* **87**: 1053-1061.
- Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V & et al. (2006) Adiponectin is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction in patients presenting with chest pain. *Eur Heart J* **27**: 2300-2309.
- Cerdá B, Espín JC, Parra S, Martínez P & Tomás-Barberán FA (2004) The potent in vitro antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans. *Eur J Nutr* **43**: 205-220.
- Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al. (2003) Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation* **108**: 2317-2322.
- Cicha I, Regler M, Urschel K, Goppelt-Struebe M & et al. (2011) Resveratrol inhibits monocytic cell chemotaxis to MCP-1 and prevents spontaneous endothelial cell migration through Rho kinase-dependent mechanism. *J Atheroscler Thromb* **18**: 1031-1042.

## **Bibliografía**

- Clifton PM (2004) Effect of grape seed extract and quercetin on cardiovascular and endothelial parameters in high-risk subjects. *J Biomed Biotechnol* **5**: 272-278.
- Coenen KR, Gruen ML, Lee-Young RS, Puglisi MJ, Wasserman DH & Hasty AH (2009) Impact of macrophage toll-like receptor 4 deficiency on macrophage infiltration into adipose tissue and the artery wall in mice. *Diabetologia* **52**: 318-328.
- Colin D, Limagne E, Jeanningros S, Jacquelin A & et al. (2011) Endocytosis of resveratrol via lipid rafts and activation of downstream signaling pathways in cancer cells. *Cancer Prev Res* **4**: 1095-1106.
- Costa J (2004) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin* **22**: 299-305.
- Crandall JP, Oram V, Trandafirescu G, Reid M & et al. (2012) Pilot Study of resveratrol in Older Adults With Impaired Glucose Tolerance. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **67**: 1307-1312.
- Csiszar A, Wang M, Lakatta EG & Ungvari Z (2008a) Inflammation and endothelial dysfunction during aging: Role of nf-kappa b. *J Appl Physiol* **105**: 1333-1341.
- Csiszar A, Smith K, Labinsky N, Orosz Z & et al. (2006) Resveratrol attenuates TNF-alpha-induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF-kappaB inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **291**: H1694-1699.
- Csiszar A, Labinsky N, Podlutzky A, Kaminski PM & et al. (2008b) Vasoprotective effects of resveratrol and SIRT1: attenuation of cigarette smoke-induced oxidative stress and proinflammatory phenotypic alterations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **294**: H2721-2735.
- Csiszar A, Labinsky N, Pinto JT, Ballabh P & et al. (2009) Resveratrol induces mitochondrial biogenesis in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **297**: H13-20.
- Czekay RP, Wilkins-Port CE, Higgins SP, et al. (2011) PAI-1: an integrator of cell signalling and migration. *Int J Cell Biol* **2011**: 562481.
- Chachay VS, Kirkpatrick CM, Hickman IJ, Ferguson M & et al. (2011) Resveratrol--pills to replace a healthy diet? *Br J Clin Pharmacol* **72**: 27-38.
- Chan KC, Chou HH, Huang CN & Chou MC (2008) Atorvastatin administration after percutaneous coronary intervention in patients with coronary artery disease and normal lipid profiles: impact on plasma adiponectin level. *Clin Cardiol* **31**: 253-258.
- Chan V, Fenning A, Iyer A, Hoey A & et al. (2011) Resveratrol improves cardiovascular function in DOCA-salt hypertensive rats. *Curr Pharm Biotechnol* **12**: 429-436.
- Chandrashekar KT & Shakarad MN (2011) Aloe vera or resveratrol supplementation in larval diet delays adult aging in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **66**: 965-971.
- Chang MS, McNinch J, Elias C, Manthey CL, Grosshans D, Meng T & et al. (1997) Molecular cloning and functional characterization of a novel CC chemokine, stimulated T cell chemotactic protein (STCP-1) that specifically acts on activated T lymphocytes. *J Biol Chem* **272**: 25229-25237.
- Chang S, Tan C, Frankel EN & Barrett DM (2000) Low-Density Lipoprotein Antioxidant Activity of Phenolic Compounds and Polyphenol Oxidase Activity in Selected Clingstone Peach Cultivars. *J Agric Food Chem* **48**: 147-151.

- Chapman MJ & et al. (2011) Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* **32**: 1345-1361.
- Charlton-Menys V, Betteridge DJ, Colhoun H, Fuller J & et al. (2009) Targets of statin therapy: LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS). *Clin Chem* **55**: 473-480.
- Chen CJ, Yu W, Fu YC, Wang X & et al. (2009) Resveratrol protects cardiomyocytes from hypoxia-induced apoptosis through the SIRT1-FOXO1 pathway. *Biochem Biophys Res Commun* **378**: 389-393.
- Chen J, Zhou Y, Mueller-Steiner S, Chen LF & et al. (2005) SIRT1 protects against microglia-dependent amyloid-beta toxicity through inhibiting NF-kappaB signaling. *J Biol Chem* **280**: 40364-40374.
- Chen YR, Yi FF, Li XY, Wang CY & et al. (2008) Resveratrol attenuates ventricular arrhythmias and improves the long-term survival in rats with myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* **22**: 479-485.
- Chew M, Zohn J, Ravn HB & Falk E (1999) Plaque disruption: the role of inflammation. Cardiovascular risk factors. **9**.
- Cho IJ, Ahn JY, Kim S, Choi MS & Ha TY (2008) Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochem Biophys Res Commun* **367**: 190-194.
- Chow HH, Garland LL, Hsu CH, Vining DR & et al. (2010) Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study. *Cancer Prev Res (Phila)* **3**: 1168-1175.
- Chow SE, Hshu YC, Wang JS & Chen JK (2007) Resveratrol attenuates oxLDL-stimulated NADPH oxidase activity and protects endothelial cells from oxidative functional damages. *J Appl Physiol* **102**: 1520-1527.
- Christie S, Walker AF, Hicks SM & Abeyasekera S (2004) Flavonoid supplement improves leg health and reduces fluid retention in premenopausal women in a double-blind, placebo-controlled study. *Phytomedicine* **11**: 11-17.
- Dal-Pan A, Blanc S & Aujard F (2010) Resveratrol suppresses body mass gain in a seasonal non-human primate model of obesity. *BMC Physiol* **10**: 11.
- Dave M, Attur M, Palmer G, Al-Mussawir HE & et al. (2008) The antioxidant resveratrol protects against chondrocyte apoptosis via effects on mitochondrial polarization and ATP production. *Arthritis Rheum* **58**: 2786-2797.
- De Groote D, Van Belleghem K, Devière J, Van Brussel W & et al. (2012) Effect of the intake of resveratrol, resveratrol phosphate, and catechin-rich grape seed extract on markers of oxidative stress and gene expression in adult obese subjects. *Ann Nutr Metab* **61**: 15-24.
- de Mello VD, Kolehmanien M, Schwab U, Pulkkinen L & Uusitupa M (2012) Gene expression of peripheral blood mononuclear cells as a tool in dietary intervention studies: what do we know so far. *Molecular Nutrition and Food Research* **56**: 1160-1172.
- de Pater SC, Kraaijeveld AO, Grauss RW, de Jager W, Liem SS, van der Hoeven BL & et al. (2008) CCL3 (MIP-1 alpha) levels are elevated during acute coronary syndromes and show strong prognostic power for future ischemic events. *J Mol Cell Cardiol* **45**: 446-452.

## **Bibliografia**

- De Pasquale CG, Arnaldo LF, Doyle IR, Aylward PE, Chef DP & Bersten AD (2004) Plasma surfactant protein-B: A novel biomarker in chronic heart failure. *Circulation* **110**: 1091-1096.
- de Vries JE (1995) Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10. *Ann Med* **27**: 537-541.
- Dehwah MA, Xu A & Huang Q (2012) MicroRNAs and type 2 diabetes/obesity. *Journal of Genetics and Genomics* **39**: 11-18.
- Delavary BM, van der Verr WM, van Egmond M, Niessen FB & Beelen RHJ (2011) Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology* **216**: 753-762.
- Delucchi F, Berni R, Frati C, Cavalli S & et al. (2012) Resveratrol treatment reduces cardiac progenitor cell dysfunction and prevents morpho-functional ventricular remodeling in type-1 diabetic rats. *PLoS One* **7**: e39836.
- Deng JY, Hsieh PS, Huang JP, Lu LS & et al. (2008) Activation of estrogen receptor is crucial for resveratrol-stimulating muscular glucose uptake via both insulin-dependent and -independent pathways. *Diabetes* **57**: 1814-1823.
- Di Chiara A & Vanuzzo D (2009) Does surveillance impact on cardiovascular prevention? *Eur Heart J* **30**: 1027-1029.
- Diebold I, Kraicun D, Bonello S & Görlach A (2008) The PAI-1 paradox in vascular remodelling. *Thromb Haemost* **100**: 984-991.
- Do GM, Kwon EY, Kim HJ, Jeon SM & et al. (2008) Long-term effects of resveratrol supplementation on suppression of atherogenic lesion formation and cholesterol synthesis in apo E-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* **374**: 55-59.
- Do GM, Jung UJ, Park HJ, Kwon EY & et al. (2012) Resveratrol ameliorates diabetes-related metabolic changes via activation of AMP-activated protein kinase and its downstream targets in db/db mice. *Mol Nutr Food Res* **56**: 1282-1291.
- Dudley J, Das S, Mukherjee S & Das DK (2009) Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. *J Nutr Biochem* **20**: 443-452.
- Dweep H, Sticht C, Pandey P & Gretz N (2011) miRWalk-database: prediction of possible miRNA binding sites by 'walking' the genes of three genomes. *Journal of Biomedical Information* **44**: 839-847.
- Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. (2006) The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation* **19**: 2850-2870.
- E. R & Walsh JH (2001) Gastrin, CCK, signaling, and cancer. *Annu Rev Physiol* **63**: 49-76.
- Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K & et al. (2001) Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* **103**: 1955-1960.
- Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Chavey C & et al. (2003) SOCS-3 inhibits insulin signaling and is up-regulated in response to tumor necrosis factor-alpha in the adipose tissue of obese mice. *J BiolChem* **276**: 47944-47949.

- Endo A (1992) The discovery and development of HMG-CoA inhibitors. *J Lipid Res* **33**: 1569-1582.
- Enzerink A & Vaheri A (2011) Fibroblasts activation in vascular inflammation. *J Thromb Haemost* **9**: 619-626.
- Erbel C, Dengler TJ, Wangler S, Bea F, Wanbgsann N, Hakimi M & et al. (2011) Expression of IL-17A in human atherosclerotic lesions is associated with increased inflammation and plaque vulnerability. *Basic Res Cardiol* **106**: 125-134.
- Espín JC, García-Conesa MT & Tomás-Barberán FA (2007) Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochemistry* **68**: 2986-3008.
- Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, et al. (2013) Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med* **368**: 1279-1290.
- Eussen S, Klungel O, Garssen J, Verhagen H, van Kranen H & et al. (2010) Support of drug therapy using functional foods and dietary supplements: focus on statin therapy. *Br J Nutr* **103**: 1260-1277.
- Evliyaoğlu O, Kibrisli E, Yildirim Y, Gökalp O & Colpan L (2011) Routine enzymes in the monitoring of type 2 diabetes mellitus. *Cell Biochemistry and Function* **29**: 506-512.
- Fabbrocini G, Staibano S, De Rosa G, Battimiello V & et al. (2011) Resveratrol-containing gel for the treatment of acne vulgaris: a single-blind, vehicle-controlled, pilot study. *Am J Clin Dermatol* **12**: 133-141.
- Faber AC, Dufort FJ, Blair D, Wagner D & et al. (2006) Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase-mediated glucose metabolism coincides with resveratrol-induced cell cycle arrest in human diffuse large B-cell lymphomas. *Biochem Pharmacol* **72**: 1246-1256.
- Fahey T & Schroeder K (2004) Cardiology. *Br J Gen Pract* **54**: 695-702.
- Fajardo LF, Kwan H, Kowalski J, Prionas SD & Allison AC (1992) Dual role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in angiogenesis. *Am J Pathol* **140**: 539-544.
- Ferrari R & Fox K (2009) Insight into the mode of action of ACE inhibition in coronary artery disease: the ultimate 'EUROPA' story. *Drugs* **69**: 265-277.
- Ferrazzano GF, Amato I, Aniello I, Zarrelli A, Pinto G & Pollio A (2011) Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules* **16**: 1468-1507.
- Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F & et al. (1998) Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr* **68**: 1208-1214.
- Ferri N, Paoletti R & Corsini A (2006) Biomarkers for atherosclerosis: patho-physiological role and pharmacological modulation. *Curr Opin Lipidol* **17**: 495-501.
- Ferry-Dumazet H, Garnier O, Mamani-Matsuda M, Dupouy M & et al. (2002) Trans-resveratrol inhibits the growth and induces the apoptosis of both normal and leukemic hematopoietic cells. *Carcinogenesis* **23**: 1327-1333.
- Filippi-Chiela EC, Villodre ES, Zamin LL & Lenz G (2011) Autophagy interplay with apoptosis and cell cycle regulation in the growth inhibiting effect of resveratrol in glioma cells. *PLoS One* **6**: e20849.
- Finne-Nielsen IL, Elbol-Rasmussen S, Mortensen A, Ravn-Haren G, Ma HP, Knuthsen P & et al. (2005) Anthocyanins increase low-density lipoprotein and plasma cholesterol and do not reduce atherosclerosis in Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits. *Mol Nutr Food Res* **49**: 301-308.

## **Bibliografia**

- Fischer-Posovszky P, Kukulius V, Tews D, Unterkircher T & et al. (2010) Resveratrol regulates human adipocyte number and function in a Sirt1-dependent manner. *Am J Clin Nutr* **92**: 5-15.
- Floyd ZE, Wang ZQ, Kilroy G & Cefalu WT (2008) Modulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma stability and transcriptional activity in adipocytes by resveratrol. *Metabolism* **57**: S32-38.
- Foletta VC, Segal DH & Cohen DR (1998) Transcriptional regulation in the immune system: all roads lead to AP-1. *J Leukoc Biol* **63**: 139-152.
- Foti Cuzzola V, Ciurleo R, Giacoppo S, Marino S & et al. (2011) Role of resveratrol and its analogues in the treatment of neurodegenerative diseases: focus on recent discoveries. *CNS Neurol Disord Drug Targets* **10**: 849-862.
- Franco JG, Lisboa PC, Lima NS, Amaral TA & et al. (2012) Resveratrol attenuates oxidative stress and prevents steatosis and hypertension in obese rats programmed by early weaning. *J Nutr Biochem*.
- Füth R, Herder C, Förster S, Müller-Scholze S, Kruse N, Rieckmann P & et al. (2004) Evaluation of diagnostic relevance of mRNA levels in peripheral blood: predictive value for mortality in hemodialysis patients. *Cytokine* **27**: 166-172.
- Fujitaka K, Otani H, Jo F, Jo H & et al. (2011) Modified resveratrol Longevinex improves endothelial function in adults with metabolic syndrome receiving standard treatment. *Nutr Res* **31**: 842-847.
- Galema TW, Geleijnse ML, Yap SC, van Domburg RT, Biagini E, Vletter WB & Ten Cate FJ (2008) Assessment of left ventricular ejection fraction after myocardial infarction using contrast echocardiography. *Eur J Echocardiogr* **9**: 250-254.
- Ganapathy S, Chen Q, Singh KP, Shankar S & et al. (2010) Resveratrol enhances antitumor activity of TRAIL in prostate cancer xenografts through activation of FOXO transcription factor. *PLoS One* **5**: e15627.
- Gatouillat G, Balasse E, Joseph-Pietras D, Morjani H & et al. (2010) Resveratrol induces cell-cycle disruption and apoptosis in chemoresistant B16 melanoma. *J Cell Biochem* **110**: 893-902.
- Genest J, Sniderman A, Cianflone K, Teng B & et al. (1986) Hyperapobetalipoproteinemia. Plasma lipoprotein responses to oral fat load. *Arteriosclerosis* **6**: 297-304.
- Genest J, Frolich J, Fodor G, McPherson R & Dyslipidemias tWGoHaO (2003) Recommendations for the management of dyslipidemias and the prevention of cardiovascular disease: summary of the 2003 update. *JAMC* **169**: 921-924.
- Gersh B, Mayosi B, Sliwa K & Yusuf S (2010) The epidemic of cardiovascular diseases in the developing world: global implications. *Eur Heart J* **31**: 642-648.
- Ghanim H, Sia CL, Abuaysheh S, Korzeniewski K & et al. (2010) An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol. *J Clin Endocrinol Metab* **95**: E1-8.
- Ghanim H, Sia CL, Korzeniewski K, Lohano T & et al. (2011) A resveratrol and polyphenol preparation suppresses oxidative and inflammatory stress response to a high-fat, high-carbohydrate meal. *J Clin Endocrinol Metab* **96**: 1409-1414.
- Ghosh AK & Vaughan DE (2012) PAI-1 in tissue fibrosis. *J Cell Physiol* **227**: 493-507.

- Gimeno E, de la Torre-Carbot K, Lamuela-Raventós RM, *et al.* (2007) Changes in the phenolic content of low density lipoprotein after olive oil consumption in men. A randomized crossover controlled trial. *Br J Nutr* **98**: 1243-1250.
- Goldberg DM, Yan J & Soleas GJ (2003) Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clin Biochem* **36**: 79-87.
- Goldstein BJ & Scalia R (2004) Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab* **89**: 2563-2568.
- Gómez-Zorita S, Fernández-Quintela A, Macarulla MT, *et al.* (2012) Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *Br J Nutr* **107**.
- González-Barrio R, Salmenkallio-Marttila M, Tomás-Barberán FA, Cantos E & Espín JC (2005) Etiology of the UVC-induced browning in white table grapes. *J Agric Food Chem* **53**: 5990-5996.
- González-Barrio R, Beltrán D, Cantos E, Gil MI, Espín JC & Tomás-Barberán FA (2006b) Comparison of Ozone and UV-C Treatments on the Postharvest Stilbenoid Monomers, Dimers and Trimers Induction in Var. 'Superior' White Table Grapes. *J Agric Food Chem* **54**: 4222-4228.
- Gorog DA (2010) Prognostic value of plasma fibrinolysis activation markers in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* **55**: 2701-2709.
- Göss M, Herrmann J, Tang H, *et al.* (2009) Prevention of vasa vasorum neovascularization attenuates early neointima formation in experimental hypercholesterolemia. *Basic Res Cardiol* **104**: 695-706.
- Gossiau A, Li S, Ho CT, Chen KY & Rawson NE (2011) The importance of natural product characterization in studies of their anti-inflammatory activity. *Mol Nutr Food Res* **55**: 74-82.
- Gouni-Berthold I & Berthold HK (2013) The role of niacin in lipid-lowering treatment: Are we aiming too high? . *Curr Pharm Des.*
- Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G & *et al.* (2007) European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* **28**: 2375-2414.
- Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ & *et al.* (2010) 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* **56**: e50-103.
- Gresele P, Pignatelli P, Guglielmini G, Carnevale R & *et al.* (2008) Resveratrol, at concentrations attainable with moderate wine consumption, stimulates human platelet nitric oxide production. *J Nutr* **138**: 1602-1608.
- Grundey SM (2002) Low-density lipoprotein, non-high-density lipoprotein, and apolipoprotein B as targets of lipid-lowering therapy. *Circulation* **106**: 2526-2529.
- Gürbüz O, Göçmen D, Dagdelen F, *et al.* (2007) Determination of flavan-3-ols and trans-resveratrol in grapes and wine using HPLC with fluorescence detection. *Food Chem* **100**: 518-525.
- Gupta G & Surolia A (2007) Collectins: sentinels of innate immunity. *Bioessays* **29**: 452-464.
- Gupta R & Deedwania P (2011) Interventions for cardiovascular disease prevention. *Cardiol Clin* **29**: 15-34.

## **Bibliografia**

- Gurusamy N, Lekli I, Mukherjee S, Ray D & et al. (2010) Cardioprotection by resveratrol: a novel mechanism via autophagy involving the mTORC2 pathway. *Cardiovasc Res* **86**: 103-112.
- Han YS, Zheng WH, Bastianetto S, Chabot JG & et al. (2004) Neuroprotective effects of resveratrol against beta-amyloid-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons: involvement of protein kinase C. *Br J Pharmacol* **141**: 997-1005.
- Hansen AS, Marckmann P, Dragsted LO, Finné Nielsen IL, Nielsen SE & Grønbaek M (2005) Effect of red wine and red grape extract on blood lipids, haemostatic factors, and other risk factors for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr* **59**: 449-455.
- Hansson GK (2005) Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* **352**: 1685-1695.
- Hansson GK & Hermansson A (2011) The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* **12**: 204-212.
- Harada N, Zhao J, Kurihara H, Nakagata N & et al. (2011) Resveratrol improves cognitive function in mice by increasing production of insulin-like growth factor-I in the hippocampus. *J Nutr Biochem* **22**: 1150-1159.
- Haraoui B, Liu PP & Papp KA (2012) Managing cardiovascular risk in patients with chronic inflammatory diseases. *Clin Rheumatol* **31**: 585-594.
- Harborne JB & Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55**: 481-504.
- Hebden JM, Gilchrist PJ, Perkins AC, Wilson CG & et al. (1999) Stool water content and colonic drug absorption: contrasting effects of lactulose and codeine. *Pharm Res* **16**: 1254-1259.
- Hebert CA & Baker JB (1993) Interleukin-8: a review. *Cancer Invest* **11**: 743-750.
- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. (2003) Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* **348**: 1104-1111.
- Heger A, Ferik F, Nersesyan A, Szekeres T & et al. (2012) Intake of a resveratrol-containing dietary supplement has no impact on DNA stability in healthy subjects. *Mutat Res* **749**: 82-86.
- Hellmuth C, Koletzko B & Peissner W (2011) Aqueous normal phase chromatography improves quantification and qualification of homocysteine, cysteine and methionine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **879**: 83-89.
- Hershey GK (2003) IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *J Allergy Clin Immunol* **111**: 677-690.
- Holst B & Williamson G (2008) Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Curr Opin Biotech* **19**: 73-82.
- Hondeghem LM (2000) Classification of antiarrhythmic agents and the two laws of pharmacology. *Cardiovascular Research* **45**: 57-60.
- Hong SW, Jung KH, Zheng HM, Lee HS & et al. (2010) The protective effect of resveratrol on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. *Arch Pharm Research* **33**: 601-609.
- Hope C, Planutis K, Planutiene M, Moyer MP & et al. (2008) Low concentrations of resveratrol inhibit Wnt signal throughput in colon-derived cells: implications for colon cancer prevention. *Mol Nutr Food Res* **52**: S52-61.



- Hoshino J, Park EJ, Kondratyuk TP, Marler L & et al. (2010) Selective synthesis and biological evaluation of sulfate-conjugated resveratrol metabolites. *J Med Chem* **53**: 5033-5043.
- Howells LM, Berry DP, Elliott PJ, Jacobson EW & et al. (2011) Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases--safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Cancer Prev Res (Phila)* **4**: 1419-1425.
- Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al. (2003) Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* **425**: 191-196.
- Hristov M & Weber C (2011) Differential role of monocyte subsets in atherosclerosis. *Thromb Haemost* **106**: 757-762.
- Hsieh TC, Wong C, John Bennett D & Wu JM (2011) Regulation of p53 and cell proliferation by resveratrol and its derivatives in breast cancer cells: an in silico and biochemical approach targeting integrin  $\alpha\beta3$ . *Int J Cancer* **129**: 2732-2743.
- Huang JP, Huang SS, Deng JY, Chang CC & et al. (2010) Insulin and resveratrol act synergistically, preventing cardiac dysfunction in diabetes, but the advantage of resveratrol in diabetics with acute heart attack is antagonized by insulin. *Free Radic Biol Med* **49**: 1710-1721.
- Hung LM, Su MJ & Chen JK (2004) Resveratrol protects myocardial ischemia-reperfusion injury through both NO-dependent and NO-independent mechanisms. *Free Radic Biol Med* **36**: 774-781.
- Iacobellis G, Corradi D & Sharma AM (2005) Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* **2**: 536-543.
- Iannitti T & Palmieri B (2011) Inflammation and genetics: an insight in the centenarian model. *Hum Biol* **83**: 531-559.
- Idris I, Tate H, Ahmad A & McCormack T (2011) Concordance between plasma apolipoprotein B levels and cholesterol indices among patients receiving statins and nonstatin treatment: Post-hoc analyses from the U.K. InPractice study. *J Clin Lipidol* **5**: 316-323.
- Ikejima H, Imanishi T, Tsujioka H, Kashiwagi M, Kuroi A, Tanimoto T & et al. (2010) Upregulation of fractalkine and its receptor, CX3CR1, is associated with coronary plaque rupture in patients with unstable angina pectoris. *Circ J* **74**: 337-345.
- Investigators TA-H (The role of niacin in raising HDL-C to reduce cardiovascular events in patients with atherosclerotic cardiovascular disease and optimally treated LDL-c AIM-HIGH: Rationale and study design) 2011. *Am Heart J* **161**: 471-477.
- Inzitari M, Di Bari M & Marchionni N (2005) Calcium channel blockers and coronary heart disease. *Aging Clin Exp Res* **17**: 6-15.
- IOM (2010) *Promoting Cardiovascular Health in the Developing World. A Critical Challenge to Achieve Global Health*. Institute of Medicine, Washington, DC.
- Jagielska J, Kapopara PR, Salguero G, et al. (2012) Interleukin-1 $\beta$  Assembles a Proangiogenic Signaling Module Consisting of Caveolin-1, Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Factor 6, p38-Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK), and MAPK-Activated Protein Kinase 2 in Endothelial Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **32**: 1280.
- Jain MK & Ridker PM (2005) Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nat Rev Drug Discov* **4**: 977-987.

## **Bibliografia**

- Jang MS, Cai EN, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CWW & et al. (1997) Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* **275**.
- Jason J, Archibald LK, Nwanyanwu OC, Byrd MG, Kazembe PN, Dobbie H & et al. (2001) Comparison of serum and cell-specific cytokines in humans. *Clin Diagn Lab Immunol* **8**: 1097-1103.
- Jaworska J, Gravel A, Fink K, Grandvaux N & Flamand L (2007) Inhibition of transcription of the beta interferon gene by the human herpes virus 6 immediate-early 1 protein. *J Virol* **81**: 5737-5748.
- Jeon BT, Jeong EA, Shin HJ, Lee Y & et al. (2012) Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes* **61**: 1444-1454.
- Jiang P, Liu R, Zheng Y, Liu X, Chang L, Xiong S & et al. (2012) MiR-34a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through targeting Notch1 in murine macrophages. *Experimental Cell Research* **318**: 1175-1184.
- Juan ME, González-Pons E & Planas JM (2010) Multidrug resistance proteins restrain the intestinal absorption of trans-resveratrol in rats. *J Nutr* **140**: 489-495.
- Juan SH, Cheng TH, Lin HC, Chu YL & et al. (2005) Mechanism of concentration-dependent induction of heme oxygenase-1 by resveratrol in human aortic smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol* **69**: 41-48.
- Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F & Thompson SG (1996) Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation* **94**: 2057-2063.
- Kaba NK, Francis CW, Moss AJ & et al. (2004) Effects of lipids and lipidlowering therapy on hemostatic factors in patients with myocardial infarction. *J Thromb Haemost* **2**: 718-725.
- Kaga S, Zhan L, Matsumoto M & Maulik N (2005) Resveratrol enhances neovascularization in the infarcted rat myocardium through the induction of thioredoxin-1, heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor. *J Mol Cell Cardiol* **39**: 813-822.
- Kamath J, Yarbrough GG, Orange AJJ & Winokur A (2009) The thyrotropin-releasing hormone (TRH)-immune system homeostatic hypothesis. *Pharmacol Ther* **121**: 20-28.
- Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N & Stokes JI (1961) Factors of risk in the development of coronary heart disease - six-year follow-up experience: the Framingham Study. *Ann Intern Med* **55**: 33-50.
- Kaplan ZS & Jackson SP (2011) The Role of Platelets in Atherothrombosis. *Hematology* **1**: 51-61.
- Kar P, Laight D, Rooprai HK, Shaw KM & Cummings M (2009) Effects of grape seed extract in Type 2 diabetic subjects at high cardiovascular risk: a double blind randomized placebo controlled trial examining metabolic markers, vascular tone, inflammation, oxidative stress and insulin sensitivity. *Diabet Med* **26**: 526-531.
- Karastergiou K, Evans I, Ogston N & et al. (2010) Epicardial adipokines in obesity and coronary artery disease induce atherogenic changes in monocytes and endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **30**: 1340-1346.

- Kastorini CM, Milionis HJ, Ioannidi A, *et al.* (2011) Adherence to the Mediterranean diet in relation to acute coronary syndrome or stroke nonfatal events: A comparative analysis of a case/case-control study. *Am Heart J* **162**: 717-724.
- Katagiri F & Glazebrook J (2004) Overview of mRNA expression profiling using microarrays. *Curr Protoc Mol Biol* **22**: 22.24.
- Kelm MA, Johnson JC, Robbins RJ, Hammerstone JF & Schmitz HH (2006) High-performance liquid chromatography separation and purification of cacao (*Theobroma cacao* L.) proanthocyanidins according to degree of polymerization using a diol stationary phase. *J Agric Food Chem* **54**: 1571-1576.
- Kempf K, Haltern G, Fütth R, Herder C, Müller-Scholze S, Gülker H & *et al.* (2006) Increased TNF-alpha and decreased TGF-beta expression in peripheral blood leukocytes after acute myocardial infarction. *Hormone and Metabolic Research* **38**: 346-351.
- Kennedy DO, Wightman EL, Reay JL, Lietz G & *et al.* (2010) Effects of resveratrol on cerebral blood flow variables and cognitive performance in humans: a double-blind, placebo-controlled, crossover investigation. *Am J Clin Nutr* **91**: 1590-1597.
- Kennedy JA & Jones GP (2001) Analysis of Proanthocyanidin Cleavage Products Following Acid-Catalysis in the Presence of Excess Phloroglucinol. *J Agric Food Chem* **49**: 1740-1746.
- Khurana R, Moons L, Shafi S, Luttun A, Collen D, Martin JF & *et al.* (2005) Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. *Circulation* **111**: 2828-2836.
- Kim HJ, Tsoy I, Park JM, Chung JI, Shin SC & Chang KC (2006) Anthocyanins from soybean seed coat inhibit the expression of TNF-alpha-induced genes associated with ischemia/reperfusion in endothelial cell by NF-kappaB-dependent pathway and reduce rat myocardial damages incurred by ischemia and reperfusion in vivo. *FEBS Lett* **580**: 1391-1397.
- Kim S, Jin Y, Choi Y & Park T (2011b) Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Biochem Pharmacol* **81**: 1343-1351.
- Kim SW, Kim CE & Kim MH (2011a) Flavonoids inhibit high glucose-induced up-regulation of ICAM-1 via the p38 MAPK pathway in human vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* **415**: 602-607.
- Klinge CM, Wickramasinghe NS, Ivanova MM & Dougherty SM (2008) Resveratrol stimulates nitric oxide production by increasing estrogen receptor alpha-Src-caveolin-1 interaction and phosphorylation in human umbilical vein endothelial cells. *FASEB J* **22**: 2185-2197.
- Klinge CM, Blankenship KA, Risinger KE, Bhatnagar S & *et al.* (2005) Resveratrol and estradiol rapidly activate MAPK signaling through estrogen receptors alpha and beta in endothelial cells. *J Biol Chem* **280**: 7460-7468.
- Koenig W, Sund M, Fröhlich M, *et al.* (1999) C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* **99**: 237-242.

## **Bibliografija**

- Kohler HP & Grant PJ (2000) Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* **342**: 1792-1801.
- Kontogianni MD, Zampelas A & Tsigos C (2006) Nutrition and inflammatory load. *Ann NY Acad Sci* **1083**: 214-238.
- Kotur-Stevuljevic J, Memon L, Stefanovic A, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N & et al. (2007) Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients. *Clin Biochem* **40**: 181-187.
- Kriketos AD, Greenfield JR, Peake PW, Furler SM, Denyer GS, Charlesworth JA & Campbell LV (2004) Inflammation, insulin resistance, and adiposity: a study of first-degree relatives of type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* **27**: 2033-2040.
- Kruithof EK (2008) Regulation of plasminogen activator inhibitor type 1 gene expression by inflammatory mediators and statins. *Thromb Haemost* **100**: 969-975.
- Kumar P, Padi SS, Naidu PS & Kumar A (2006) Effect of resveratrol on 3-nitropropionic acid-induced biochemical and behavioural changes: possible neuroprotective mechanisms. *Behav Pharmacol* **17**: 485-492.
- Kunita E, Yamamoto H, Kitagawa T & et al. (2012) Association between plasma high-molecular-weight adiponectin and coronary plaque characteristics assessed by computed tomography angiography in conditions of visceral adipose accumulation. *Circ J* **76**: 1687-1696.
- Kurowska-Stolarska M, Alivernini S, Ballantine LE, Asquith DL, Millar NL, Gilchrist DS & et al. (2011) MicroRNA-155 as a proinflammatory regulator in clinical and experimental arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**: 11193-11198.
- Kutuk O & Basaga H (2003) Inflammation meets oxidation: NF-kappaB as a mediator of initial lesion development in atherosclerosis. *Trends Mol Med* **9**: 549-557.
- Kuzmuk KN & Schook LB (2011) Pigs as a model for biomedical sciences. ed.^eds.), p.^pp. 426-444. CABI, Wallingford.
- la Porte C, Voduc N, Zhang G, Seguin I & et al. (2010) Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. *Clin Pharmacokinet* **49**: 449-454.
- Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H & et al. (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell Mol Neurobiol* **127**: 1109-1122.
- Lamallice L, Le Boeuf F & Huot J (2007) Endothelial cell migration during angiogenesis. *Circ Res* **100**: 782-794.
- Langcake P & Pryce RJ (1976) The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol Plant Pathol* **9**: 77-86.
- Langheinrich AC, Kampschulte M, Buch T & Bohle R (2007) Vasa vasorum and atherosclerosis - Quid novi? *Thromb Haemost* **97**: 873-879.
- Larrosa M, García-Conesa MT, Espín JC & Tomás-Barberán FA (2010) Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Mol Aspects Med* **31**: 513-539.

- Larrosa M, Yanez-Gascon MJ, Selma MV, Gonzalez-Sarrias A & et al. (2009) Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model. *J Agric Food Chem* **57**: 2211-2220.
- Lasa A, Churrua I, Eseberri I, Andrés-Lacueva C & et al. (2012) Delipidating effect of resveratrol metabolites in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Nutr Food Res* **56**: 1559-1568.
- Lea AGH, Bridle P, Timberlake CF & Singleton VL (1979) The procyanidins of white grapes and wines. *Am J Enol Vitic* **30**: 289-300.
- Lee HS, Ha AW & Kim WK (2012) Effect of resveratrol on the metastasis of 4T1 mouse breast cancer cells in vitro and in vivo. *Nutr Res Pract* **6**: 294-300.
- Lee M, Kim S, Kwon OK, Oh SR & et al. (2009) Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of resveratrol, a polyphenolic stilbene, in a mouse model of allergic asthma. *Int Immunopharmacol* **9**: 418-424.
- Lee MF, Pan MH, Chiou YS, Cheng AC & et al. (2011) Resveratrol modulates MED28 (Magicin/EG-1) expression and inhibits epidermal growth factor (EGF)-induced migration in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *J Agric Food Chem* **59**: 11853-11861.
- Lekli I, Szabo G, Juhasz B, Das S & et al. (2007) Protective mechanisms of resveratrol against ischemia/reperfusion-induced damage in hearts obtained from Zucker obese rats: the role of GLUT-4 and endothelin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **294**: H859-866.
- Leonard SS, Xia C, Jiang BH, Stinefelt B & et al. (2003) Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem Biophys Res Commun* **309**: 1017-1026.
- Li G, He S, Chang L, Lu H & et al. (2011) GADD45 $\alpha$  and annexin A1 are involved in the apoptosis of HL-60 induced by resveratrol. *Phytomedicine* **18**: 704-709.
- Li H & Förstermann U (2012) Red wine and cardiovascular health. *Circ Res* **111**: 959-961.
- Li H, Chen J, Huang A, Stinson J, Heldens S, Foster J & et al. (2000) Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**.
- Liao PC, Ng LT, Lin LT, Richardson CD & et al. (2010) Resveratrol arrests cell cycle and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma Huh-7 cells. *J Med Food* **13**: 1415-1423.
- Libby P (2006) Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr* **83 (Suppl)**: 456S-460S.
- Libby P & Crea F (2010) Clinical implications of inflammation for cardiovascular primary prevention. *Eur Heart J* **31**: 777-783.
- Libby P, Ridker PM & Hansson GK (2009) Inflammation in atherosclerosis, from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol* **54**: 2129-2138.
- Libby P, Ridker PM & Hansson GK (2011) Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* **473**: 317-325.
- Lin JF, Lin SM, Chih CL, Nien MW & et al. (2008) Resveratrol reduces infarct size and improves ventricular function after myocardial ischemia in rats. *Life Sci* **83**: 313-317.
- Lin KH, Hsiao G, Shih CM, Chou DS & et al. (2009) Mechanisms of resveratrol induced platelet apoptosis. *Cardiovasc Res* **83**: 575-585.

## **Bibliografia**

- Lin X, Wu G, Huo WQ, Zhang Y & et al. (2012) Resveratrol induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction in bladder carcinoma cells. *Int J Urol* **19**: 757-764.
- Lin Z, Kumar A, SenBanerjee S & et al. (2005) Kruppel-like factor 2 (KLF2) regulates endothelial thrombotic function. *Circ Res* **96**: e48-57.
- Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L & Siegbahn A (2001) Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. *JAMA* **286**: 2107-2113.
- Liu M & Liu F (2012) Up- and down-regulation of adiponectin expression and multimerization: mechanisms and therapeutic implication. *Biochimie* **94**: 2126-2130.
- Louis XL, Thandapilly SJ, Mohankumar SK, Yu L & et al. (2012) Treatment with low-dose resveratrol reverses cardiac impairment in obese prone but not in obese resistant rats. *J Nutr Biochem* **23**: 1163-1169.
- Lowrey JA, Stewart GA, Lindey S, Hoyne GF, Dallman MJ, Howie SE & et al. (2002) Sonic hedgehog promotes cell cycle progression in activated peripheral CD4(+) T lymphocytes. *J Immunol* **169**: 1869-1875.
- Lyngdoh T, Vollenweider P, Waeber G & Marques-Vidal P (2011) Association of statins with inflammatory cytokines: A population-based Colaus study. *Atherosclerosis* **219**: 253-258.
- Lyons MM, Yu C, Toma RB, Cho SY, Reiboldt W, Lee J & Van Breemen RB (2003) Resveratrol in raw and baked blueberries and bilberries. *J Agric Food Chem* **51**: 5867-5870.
- Ma J, Dempsey AA, Stamatiou D, Marshall KW & Liew CC (2007) Identifying leukocyte gene expression patterns associated with plasma lipid levels in human subjects. *Atherosclerosis* **191**: 63-72.
- Ma X, Becker Buscaglia LE, Barker JR & Li Y (2011) MicroRNAs in NF-kappaB signaling. *Journal of Molecular Cell Biology* **3**: 159-166.
- Macarulla MT, Alberdi G, Gómez S, et al. (2009) Effects of different doses of resveratrol on body fat and serum parameters in rats fed a hypercaloric diet. *J Physiol Biochem* **65**: 369-376.
- Mader I, Wabitsch M, Debatin KM, Fischer-Posovszky P & et al. (2010) Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1-independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. *Faseb J* **24**: 1997-2009.
- Magyar K, Halmosi R, Palfi A, Feher G & et al. (2012) Cardioprotection by resveratrol: A human clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Clin Hemorheol Microcirc* **50**: 179-187.
- Maia H, Jr, Haddad C, Pinheiro N & Casoy J (2012) Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain. *Int J Womens Health* **4**: 543-549.
- Mallat Z, Besnard S, Duriez M, et al. (1999) Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* **85**: e17-24.
- Manach C, Scalbert A, Monrad C, Remesy C & Jiménez L (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* **79**: 727-747.
- Marambaud P, Zhao H & Davies P (2005) Resveratrol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *J Biol Chem* **280**: 37377-37382.

- March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V & et al. (1985) Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature Reviews Genetics* **315**: 641-647.
- Marchal J, Blanc S, Epelbaum J, Aujard F & et al. (2012) Effects of chronic calorie restriction or dietary resveratrol supplementation on insulin sensitivity markers in a primate, *Microcebus murinus*. *PLoS One* **7**: e34289.
- Marchand A, Proust C, Morange PE, Lompré AM & Trégouët DA (2012) miR-421 and miR-30c inhibit SERPINE 1 gene expression in human endothelial cells. *PLoS One* **7**: e44532.
- Maresca G, Di Blasio A, Marchioli R & Di Minno G (1999) Measuring plasma fibrinogen to predict stroke and myocardial infarction: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **19**: 1368-1377.
- Marmot M & Wilkinson R (1999) *Social determinants of health*. Oxford University Press, New York.
- Martin AR, Villegas I, Sanchez-Hidalgo M & de la Lastra CA (2006) The effects of resveratrol, a phytoalexin derived from red wines, on chronic inflammation induced in an experimentally induced colitis model. *Br J Pharmacol* **147**: 873-885.
- Maruyama S, Shibata R, Ohashi K, et al. (2011) Adiponectin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity through Akt protein-dependent mechanism. *J Biol Chem* **286**: 32790-32800.
- Maruyoshi H, Kojima S, Funahashi T & et al. (2004) Adiponectin is inversely related to plasminogen activator inhibitor type 1 in patients with stable exertional angina. *Thromb Haemost* **91**: 1026-1030.
- Matsumoto H, Takenami E, Iwasaki-Kurashige K, Osada T, Katsumura T & Hamaoka T (2005) Effects of blackcurrant anthocyanin intake on peripheral muscle circulation during typing work in humans. *Eur J Appl Physiol* **94**: 36-45.
- McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, et al. (2005) Effect of daily fruit ingestion on angiotensin converting enzyme activity, blood pressure, and oxidative stress in chronic smokers. *Free Rad Res* **39**: 1241-1248.
- Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R & Miller GJ (1993) Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* **342**: 1076-1079.
- Meng X, Maliakal P, Lu H, Lee MJ & et al. (2004) Urinary and plasma levels of resveratrol and quercetin in humans, mice, and rats after ingestion of pure compounds and grape juice. *J Agric Food Chem* **52**: 935-942.
- Mertens I, Ballaux D, Funahashi T & et al. (2005) Inverse relationship between plasminogen activator inhibitor-I activity and adiponectin in overweight and obese women. Interrelationship with visceral adipose tissue, insulin resistance, HDL-chol and inflammation. *Thromb Haemost* **94**: 1190-1195.
- Mesko B, Poliska S & Nagy L (2011) Gene expression profiles in peripheral blood for the diagnosis of autoimmune diseases. *Trends in Molecular Medicine* **17**: 223-233.
- Metcalf D, Begley CG, Nicola N & Johnson GR (1987) Quantitative responsiveness of murine hemopoietic populations in vitro and in vivo recombinant multi-CSF (IL-3). *Exp Hematol*. **15**: 288-295.

## **Bibliografia**

- Milenkovic D, Deval C, Dubray C, Mazur A & Morand C (2011) Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. *PLoS One* **6**: e26669.
- Milenkovic D, Deval C, Gouranton E, Landrier JF, Scalbert A, Morand C & Mazur A (2012) Modulation of miRNA expression by dietary polyphenols in apoE deficient mice: a new mechanism of the action of polyphenols. *PLoS One* **7**: e29837.
- Militaru C, Donoiu I, Craciun A, Scorei ID & et al. (2013) Oral resveratrol and calcium fructoborate supplementation in subjects with stable angina pectoris: Effects on lipid profiles, inflammation markers, and quality of life. *Nutrition* **29**: 178-183.
- Mischke K, Knackstedt C & Marx N (2012) Anticoagulant and Antiplatelet Therapy in Patients with Atrial Fibrillation and Coronary Artery Disease. *Thrombosis* **2012**: 184573.
- Moller P, Loft S, Alfthan G & Freese R (2004) Oxidative DNA damage in circulating mononuclear blood cells after ingestion of blackcurrant juice or anthocyanin-rich drink. *Mutat Res* **551**: 119-126.
- Montalescot G, Collet JP, Choussat R & Thomas D (1998) Fibrinogen as a risk factor for coronary heart disease. *Eur Heart J* **19** Suppl H:H11-17.
- Moon SO, Kim W, Sung MJ, Lee S & et al. (2006) Resveratrol suppresses tumor necrosis factor-alpha-induced fractalkine expression in endothelial cells. *Mol Pharmacol* **70**: 112-119.
- Mora S, Musunuru K & Blumenthal RS (2009) The clinical utility of high-sensitivity C-reactive protein in cardiovascular disease and the potential implication of JUPITER on current practice guidelines. *Clin Chem* **55**: 219-228.
- Moreau ME, Garbacki N, Molinaro G, Brown NJ, Marceau F & Adam A (2005) The kallikrein-hinin system: current and future pharmacological targets. *J Pharmacol Sci* **99**: 6-38.
- Moreno-Palanco MA, Ibáñez-Sanz P, Ciria-de Pablo C & et al. (2011) Impact of comprehensive and intensive treatment of risk factors concerning cardiovascular mortality in secondary prevention: MIRVAS Study. *Rev Esp Cardiol* **64**: 179-185.
- Mudò G, Mäkelä J, Di Liberto V, Tselykh TV & et al. (2012) Transgenic expression and activation of PGC-1 $\alpha$  protect dopaminergic neurons in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Cell Mol Life Sci* **7**: 1153-1165.
- Murie C, Woody O, Lee AY & Nadon R (2009) Comparison of small n statistical tests of differential expression applied to microarrays. *BMC Bioinformatics* **10**: 45.
- Nabel E & Braunwald E (2012) A Tale of Coronary Artery Disease and Myocardial Infarction. *N Engl J Med* **366**: 54-63.
- Nakamura Y, Shimada K, Fukuda D & et al. (2004) Implications of plasma concentrations of adiponectin in patients with coronary artery disease. *Heart* **90**: 528-533.
- Nambi V, Hoogeveen RC & Ballantyne C (2009) Newer Markers for Population Screening: Focus on Lipoprotein-Related Markers. *Biomarkers in Heart Disease*, (de Lemos JA, ed.), p. pp. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.



- Naruszewicz M, Laniewska I, Millo B & Dluzniewski M (2007) Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis* **194**: e179-184.
- Natella F, Belevi F, Gentili V, Ursini F & Scaccini C (2002) Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *J Agric Food Chem* **50**: 7720-7725.
- Navarro JF, Mora C, Gómez M, Muros M, López-Aguilar C & García J (2008) Influence of renal involvement on peripheral blood mononuclear cell expression behaviour of tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in type 2 diabetic patients. *Nephrology Dialysis Transplantation* **23**: 919-926.
- Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D & et al. (1985) Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res* **13**: 6361-6373.
- Nguyen AV, Martinez M, Stamos MJ, Moyer MP & et al. (2009) Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. *Cancer Manag Res* **1**: 25-37.
- NHLBI (2011) *NHLBI fact book, fiscal year 2011*. Bethesda.
- Ni CW, Qiu H & Jo H (2011) MicroRNA-663 upregulated by oscillatory shear stress plays a role in inflammatory response of endothelial cells. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* **300**: H1762-1769.
- Nicholls SJ (2012) The AIM-HIGH (Atherothrombosis intervention in metabolic syndrome with low HDL/High triglycerides: Impact on global health outcomes) trial: to believe or not to believe? *J Am Coll Cardiol* **59**: 2065-2067.
- Nijjar PS, Burke FM, Bloesch A & Rader DJ (2010) Role of dietary supplements in lowering low-density lipoprotein cholesterol: a review. *J Clin Lipidol* **4**: 248-258.
- Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P & et al. (2005) Reversal of atherosclerosis with aggressive lipid lowering (REVERSAL) investigators. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* **352**: 29-38.
- Norata GD, Marchesi P, Passamonti S, Pirillo A & et al. (2007) Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of catechin, caffeic acid and trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice. *Atherosclerosis* **191**: 265-271.
- Nordmann AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle KR, Estruch R & Briel M (2011) Meta-analysis comparing Mediterranean diet to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factor. *Am J Med* **124**: 841-851 e842.
- Nunes T, Almeida L, Rocha JF, Falcão A & et al. (2009) Pharmacokinetics of trans-resveratrol following repeated administration in healthy elderly and young subjects. *J Clin Pharmacol* **49**: 1477-1482.
- O'Connell RM, Kahn D, Gibson WS, et al. (2010) MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development. *Immunity* **33**: 607-619.
- Olholm J, Paulsen SK, Cullberg KB, Richelsen B & Pedersen SB (2010) Anti-inflammatory effect of resveratrol on adipokine expression and secretion in human adipose tissue explants. *Int J Obes* **34**: 1546-1553.

## **Bibliografía**

- Onat D, Brillon D, Colombo PC & Schmidt AM (2011) Human vascular endothelial cells: a model system for studying vascular inflammation in diabetes and atherosclerosis. *Curr Diab Rep* **11**: 193-202.
- Ortuño J, Covas MI, Farre M, Pujadas M & et al. (2010) Matrix effects on the bioavailability of resveratrol in humans. *Food Chem* **4**: 1123-1130.
- Ozasa N, Morimoto T, Bao B & et al. (2012) beta-blocker use in patients after percutaneous coronary interventions: One size fits all? Worse outcomes in patients without myocardial infarction or heart failure. *Int J Cardiol*.
- Packard KA, Campbell JA, Knezevich JT & Davis EM (2012) Emerging Antiplatelet Therapy for Coronary Artery Disease and Acute Coronary Syndrome. *Pharmacotherapy* **3**: 244–273.
- Paffett ML, Hesterman J, Candelaria G, Lucas S & et al. (2012) Longitudinal in vivo SPECT/CT imaging reveals morphological changes and cardiopulmonary apoptosis in a rodent model of pulmonary arterial hypertension. *PLoS One* **7**: e40910.
- Pandey M, Loskutoff DJ & Samad F (2005) Molecular mechanisms of tumor necrosis factor-alpha-mediated plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipocytes. *FASEB J* **19**: 1317-1319.
- Park SJ, Ahmad F, Philp A, Baar K & et al. (2012) Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell Mol Neurobiol* **148**: 421-433.
- Pascual G & Glass CK (2006) Nuclear receptors versus inflammation: mechanisms of transrepression. *Trends Endocrinol Metab* **17**: 321-327.
- Patel KR, Brown VA, Jones DJ, Britton RG & et al. (2010) Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. *Cancer Res* **70**: 7392-7399.
- Patel KR, Scott E, Brown VA, Gescher AJ & et al. (2011) Clinical trials of resveratrol. *Ann NY Acad Sci* **1215**: 161-169.
- Pauwels EK (2011) The protective effect of the Mediterranean diet: Focus on cancer and cardiovascular risk. *Med Princ Pract* **20**: 103-111.
- Pearson TA, Blair SN, Daniels SR & et al. (2002) AHA guidelines for primary prevention of cardiovascular disease and stroke: 2002 update. *Circulation* **106**: 388-391.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. (2003) Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* ;. **107**: 499-511.
- Penumathsa SV, Thirunavukkarasu M, Koneru S, Juhasz B & et al. (2007) Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *J Mol Cell Cardiol* **42**: 508-516.
- Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z & et al. (2012) European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* **33**: 1635-1701.

- Petrowski G, Gurusamy N & Das DK (2011) Resveratrol in cardiovascular health and disease. *Ann NY Acad Sci* **1215**: 22-33.
- Picard F, Kurtev M, Chung N & et al. (2004) Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* **429**: 771-776.
- Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A & et al. (2004) Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPARgamma. *Nature* **429**: 771-776.
- Planas JM, Alfaras I, Colom H & Juan ME (2012) The bioavailability and distribution of trans-resveratrol are constrained by ABC transporters. *Arch Biochem Biophys* **527**: 67-73.
- Planavila A, Iglesias R, Giral M & Villarroya F (2011) Sirt1 acts in association with PPAR $\alpha$  to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Cardiovasc Res* **90**: 276-284.
- Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM, Robinson K & Jacobsen DW (2001) Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation* **103**: 2717-2723.
- Poindexter NJ, Walch ET, Chada S & Grimm EA (2005) Cytokine induction of interleukin-24 in human peripheral blood mononuclear cells. *J Leukoc Biol* **78**: 745-752.
- Popat R, Plesner T, Davies F, Cook G & et al. (2012) A phase 2 study of SRT501 (resveratrol) with bortezomib for patients with relapsed and or refractory multiple myeloma. *Br J Haematol*.
- Poulsen MM, Vestergaard PF, Clasen BF, Radko Y & et al. (2012) High-Dose Resveratrol Supplementation in Obese Men: An Investigator-Initiated, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial of Substrate Metabolism, Insulin Sensitivity, and Body Composition. *Diabetes*.
- Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S, Lorenzo-Benayas MJ & et al. (2005) Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-kappaB. *Int J Cancer* **115**: 74-84.
- Proost P, Wuyts A, Conings R, Lenaerts JP, Billiau A, Opdenakker G & et al. (1993) Human and bovine granulocyte chemotactic protein-2: complete amino acid sequence and functional characterization as chemokines. *Biochemistry* **32**: 10170-10171.
- Puddu GM, Cravero E, Arnone G, Muscari A & Puddu P (2005) Molecular aspects of atherogenesis: new insights and unsolved questions. *J Biomed Sci* **12**: 839-853.
- Puissant A, Robert G, Fenouille N, Luciano F & et al. (2010) Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK- mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. *Cancer Res* **70**: 1042-1052.
- Ramar M, Manikandan B, Raman T, Priyadarsini A & et al. (2012) Protective effect of ferulic acid and resveratrol against alloxan-induced diabetes in mice. *Eur J Pharmacol* **690**: 226-235.
- Ramos S (2007) Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem* **18**: 427-442.
- Rashid A, Liu C, Sanli T, Tsiani E & et al. (2011) Resveratrol enhances prostate cancer cell response to ionizing radiation. Modulation of the AMPK, Akt and mTOR pathways. *Radiat Oncol* **6**: 144.
- Rasmussen SE, Frederiksen H, Krogholm KS & Poulsen L (2005) Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Mol Nutr Food Res* **49**: 159-174.

## **Bibliografia**

- Rayalam S, Yang JY, Ambati S, Della-Fera MA & et al. (2008) Resveratrol induces apoptosis and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Phytotherapy Res* **22**: 1367-1371.
- Razavi SM, Gholamin S, Eskandari A, et al. (2013) Red grape seed extract improves lipid profiles and decreases oxidized low-density lipoprotein in patients with mild hyperlipidemia. *J Med Food* **16**: 255-258.
- Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, et al. (2011) ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* **32**: 1769-1818.
- Renaud S & de Lorgeril M (1992) Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* **339**: 1523-1526.
- Ribereau-Gayon P (1982) The anthocyanins of grapes and wines. *Anthocyanins as food colors*, (Markakis P, ed.^eds.), p.^pp. 209-244. Academic Press, New York.
- Richard N, Porath D, Radspieler A & Schwager J (2005) Effects of resveratrol, piceatannol, tri-acetoxystilbene, and genistein on the inflammatory response of human peripheral blood leukocytes. *Molecular Nutrition and Food Research* **49**: 431-442.
- Ridker PM (2003) Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* **107**: 363-369.
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE & Rifai N (2000) C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* **342**: 836-843.
- Ridker PM, Cannon CP, Morrow D & et al. (2005) C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* **352**: 20-28.
- Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA & et al. (2009) Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet* **373**: 1175-1182.
- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F & Braunwald E (1999) Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* **100**: 230-235.
- Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS & Gotto AMJ (2001) Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med* **344**: 1959-1965.
- Ridker PM, Danielson E, Fonseca F, et al. (2008) Rosuvastatin to Prevent Vascular Events in Men and Women with Elevated C-Reactive Protein. *New England Journal of Medicine* **359**: 2195-2207.
- Rimando AM, Kalt W, Magee JB, Dewey J & Balington JR (2004) Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in Vaccinium berries. *J Agric Food Chem* **57**: 4713-4719.
- Rivera L, Moron R, Zarzuelo A & Galisteo M (2009) Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem Pharmacol* **77**: 1053-1063.
- Robich MP, Osipov RM, Nezafat R, Feng J & et al. (2010) Resveratrol improves myocardial perfusion in a swine model of hypercholesterolemia and chronic myocardial ischemia. *Circulation* **122**: S142-149.

- Robich MP, Osipov RM, Chu LM, Han Y & et al. (2011) Resveratrol modifies risk factors for coronary artery disease in swine with metabolic syndrome and myocardial ischemia. *Eur J Pharmacol* **664**: 45-53.
- Robichaud JL & Noble AC (1990) Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *J Sci Food Agric* **53**,: 343-353.
- Roggli E, Britan A, Gattesco S, Lin-Marq N, Abderrahmani A, Meda P & et al. (2010) Involvement of microRNAs in the cytotoxic effects exerted by proinflammatory cytokines on pancreatic beta-cells. *Diabetes Care* **59**: 978-986.
- Roghani M & Baluchnejadmojarad T (2010) Mechanisms underlying vascular effect of chronic resveratrol in streptozotocin-diabetic rats. *Phytother Res* **24**: S148-154.
- Rosenson RS, Davidson MH & Pourfarzib R (2010) Underappreciated opportunities for low-density lipoprotein management in patients with cardiometabolic residual risk. *Atherosclerosis* **213**: 1-7.
- Rotches-Ribalta M, Andres-Lacueva C, Estruch R, Escribano E & et al. (2012) Pharmacokinetics of resveratrol metabolic profile in healthy humans after moderate consumption of red wine and grape extract tablets. *Pharmacol Res* **66**: 375-382.
- Roy P, Kalra N, Prasad S, George J & et al. (2009) Chemopreventive Potential of resveratrol in Mouse Skin Tumors Through Regulation of Mitochondrial and PI3K/AKT Signaling Pathways. *Pharm Res* **26**: 211-217.
- Roy SK, Chen Q, Fu J, Shankar S & et al. (2011) Resveratrol inhibits growth of orthotopic pancreatic tumors through activation of FOXO transcription factors. *PLoS One* **6**: e25166.
- Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA & et al. (2007) Prognostic significance of the Centers for Disease Control/American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable CAD. *Circulation* **115**: 1528-1536.
- Saif MW & Chu E (2010) Biology of colorectal cancer. *Cancer J* **16**: 196-201.
- Sakamoto K, Sakamoto T & Ogawa H (2006) The effect of 6 months of treatment with pravastatin on serum adiponection concentrations in Japanese patients with coronary artery disease and hypercholesterolemia: a pilot study. *Clin Ther* **28**: 1012-1011.
- Saleh MC, Connell BJ & Saleh TM (2010) Resveratrol preconditioning induces cellular stress proteins and is mediated via NMDA and estrogen receptors. *Neuroscience* **166**: 445-454.
- Samad F & Loskutoff DJ (1996) Tissue distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in obese mice. *Mol Med* **2**: 568-582.
- Sanchez-Fidalgo S, Cardeno A, Villegas I, Talero E & et al. (2010) Dietary supplementation of resveratrol attenuates chronic colonic inflammation in mice. *Eur J Pharmacol* **633**: 78-84.
- Sanders MA & Majumdar AP (2011) Front Biosci. *Colon cancer stem cells: implications in carcinogenesis* **16**: 1651-1662.
- Sanders TH, McMichael RW, Jr & Hendrix KW (2000) Occurrence of Resveratrol in Edible Peanuts. *J Agric Food Chem* **48**: 1243-1246.
- Sandhu MS, Dunger DB & Giovannucci EL (2002) Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF binding proteins, their biologic interactions, and colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* **94**: 972-980.

## **Bibliografia**

- Sano A, Uchida R, Saito M, Shioya N, Komori Y, Tho Y & Hashizume N (2007) Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* **53**: 174-182.
- Sareen D, van Ginkel PR, Takach JC, Mohiuddin A & et al. (2006) Mitochondria as the primary target of resveratrol-induced apoptosis in human retinoblastoma cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **47**: 3708-3716.
- Sayin O, Arslan N, Altun ZS & Akdogan G (2011) In vitro effect of resveratrol against oxidative injury of human coronary artery endothelial cells. *Turk J Med Sci* **41**: 211-218.
- Scott E, Steward WP, Gescher AJ & Brown K (2012) Resveratrol in human cancer chemoprevention-choosing the 'right' dose. *Mol Nutr Food Res* **56**: 7-13.
- Scriver R, Vasile M, Bartosiewicz I & Valesini G (2011) Inflammation as “common soil” of the multifactorial diseases. *Autoimmun Rev* **10**: 369-374.
- Seeni A, Takahashi S, Takeshita K, Tang M & et al. (2008) Suppression of prostate cancer growth by resveratrol in the transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP) model. *Asian Pac J Cancer Prev* **9**: 7-14.
- Senaldi G, Varnum BC, Sarmiento U, Starnes C, Lile J, Scully S & et al. (1999) Novel neurotrophin-1/B cell-stimulating factor-3: a cytokine of the IL-6 family. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 11458-11463.
- Shah PK (2006) *Factores de riesgo en la enfermedad coronaria*. Taylor and Francis Group, New York.
- Shang J, Chen LL, Xiao FX, Sun H & et al. (2008) Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMP-activated protein kinase. *Acta Pharmacol Sin* **29**: 698-706.
- Shen F, Chen SJ, Dong XJ, Zhong H, Li YT & Cheng GF (2003) Suppression of IL-8 gene transcription by resveratrol in phorbol ester treated human monocytic cells. *Journal of Asian Natural Products Research* **5**: 151-157
- Shen MY, Hsiao G, Liu CL, Fong TH & et al. (2007) Inhibitory mechanisms of resveratrol in platelet activation: pivotal roles of p38 MAPK and NO/cyclic GMP. *Br J Haematol* **139**: 475-485.
- Sheweita SA & Tilmisany AK (2003) Cancer and phase II drug-metabolizing enzymes. *Curr Drug Metab* **4**: 45-58.
- Shin S, Park JS, Kim YJ, Oh T, An S & Park CS (2012) Differential gene expression profile in PBMCs from subjects with AERD and ATA: a gene marker for AERD. *Mol Genet Genomics* **287**: 361-371.
- Siemann EH & Creasy LL (1992) Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *Am J Enol Vitic* **43**: 49-52.
- Singh NP, Hegde VL, Hofseth LJ, Nagarkatti M & et al. (2007) Resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) ameliorates experimental allergic encephalomyelitis, primarily via induction of apoptosis in T cells involving activation of aryl hydrocarbon receptor and estrogen receptor. *Mol Pharmacol* **72**: 1508-1521.
- Singh UP, Singh NP, Singh B, Hofseth LJ & et al. (2010) Resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) induces silent mating type information regulation-1 and down-regulates nuclear transcription factor-kappaB activation to abrogate dextran sulfate sodium-induced colitis. *J Pharmacol Exp Ther* **332**: 829-839.
- Singleton VL & Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybide-phosphotungstin acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**: 144-158.

- Sisman AR, Kume T, Tas G, Akan P & et al. (2007) Comparison and evaluation of two C-reactive protein assays based on particle-enhanced immunoturbidimetry. *J Clin Lab Anal* **21**: 71-76.
- Sivaprakasapillai B, Edirisinghe I, Randolph J, Steinberg F & Kappagoda T (2009) Effect of grape seed extract on blood pressure in subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism* **58**: 1743-1746.
- Small EM & Olson EN (2011) Prevalent roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* **469**: 336-342.
- Smith DA, Irving SD, Sheldon J, Cole D & Kaski JC (2001) Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation* **104**: 746-749.
- Smith SC, Jr, Benjamin EJ, Bonow RO, Braun LT, Creager MA & et al. (2011) AHA/ACC Secondary Prevention and Risk Reduction Therapy for Patients With Coronary and Other Atherosclerotic Vascular Disease: 2011 Update : A Guideline From the American Heart Association and American College of Cardiology Foundation. *Circulation* **58**: 2432-2446.
- Smoliga JM, Vang O & Baur JA (2012) Challenges of translating basic research into therapeutics: Resveratrol as an example. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **67**: 158-167.
- Sniderman AD, Williams K, Contois JH, Monroe HM & et al. (2011) A meta-analysis of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B as markers of cardiovascular risk. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* **4**: 337-345.
- Sodha NR, Clements RT, Boodhwani M, Xu SH, Laham RJ, Bianchi C & et al. (2009) Endostatin and angiostatin are increased in diabetic patients with coronary artery disease and associated with impaired coronary collateral formation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **296**: 428-434.
- Spanier G, Xu H, Xia N, Tobias S & et al. (2009) Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). *J Physiol Pharmacol* **60**: 111-116.
- Spinsanti G, Zannolli R, Panti C, et al. (2008) Quantitative Real-Time PCR detection of TRPV1-4 gene expression in human leukocytes from healthy and hyposensitive subjects. *Mol Pain* **4**: 51.
- Sprague AH & Khalil RA (2009) Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol* **78**: 539-552.
- Srivastava G, Dixit A, Yadav S, Patel DK & et al. (2012) Resveratrol potentiates cytochrome P450 2 d22-mediated neuroprotection in maneb- and paraquat-induced parkinsonism in the mouse. *Free Radic Biol Med* **52**: 1294-1306.
- St. Leger A, Cochrane AI & Moore F (1979) Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of red wine. *Lancet* **8124**: 1017-1020.
- Stähler CF, Keller A, Leidinger P, Backes C, Chandran A, Wischhusen J & et al. (2012) Whole miRNome-wide differential co-expression of microRNAs. *Genomics Proteomics Bioinformatics* **10**: 285-294.
- Stakleff KS, Sloan T, Blanco D, Marcanthony S & et al. (2012) Resveratrol exerts differential effects in vitro and in vivo against ovarian cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* **13**: 1333-1340.
- Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE & et al. (2008) Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism* **58**: 1001-1009.

## **Bibliografia**

- Stefani M, Markus MA, Lin RC, Pinese M & et al. (2007) The effect of resveratrol on a cell model of human aging. *Ann N Y Acad Sci* **1114**: 407-418.
- Steg PG, Bhatt DL, Wilson PW & et al. (2007) One-year cardiovascular event rates in outpatients with atherothrombosis. *JAMA* **297**: 1197-1206.
- Steg PG, Greenlaw N, Tardif JC & et al. (2012) Women and men with stable coronary artery disease have similar clinical outcomes: insights from the international prospective CLARIFY registry. *Eur Heart J* **33**: 2831-2840.
- Stervbo U, Vang O & Bonnesen C (2007) A review of the content of the putative chemopreventive phytoalexin resveratrol in red wine. *Food Chem* **101**: 449-457.
- Stone KD, Prussin C & Metcalfe DD (2010) IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* **125 (Suppl 2)**: S73-S80.
- Strong R, Miller RA, Astle CM, Baur JA & et al. (2012) Evaluation of Resveratrol, Green Tea Extract, Curcumin, Oxaloacetic Acid, and Medium-Chain Triglyceride Oil on Life Span of Genetically Heterogeneous Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **68**: 6-16.
- Subauste AR & Burant CF (2007) Role of FoxO1 in FFA-induced oxidative stress in adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **293**: E159-164.
- Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N & et al. (1998) Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* **273**: 21875-21882.
- Sun X, Icli B, Wara AK, Belkin N, He S, Kobzik L & et al. (2012) MicroRNA-181b regulates NF- $\kappa$ B-mediated vascular inflammation. *Journal of Clinical Investigation* **122**: 1973-1990.
- Švajger U & Jeras M (2012) Anti-inflammatory effects of resveratrol and its potential use in therapy of immune-mediated diseases. *International Reviews of Immunology* **31**: 202-222.
- Szkudelska K, Nogowski L & Szkudelski T (2009) Resveratrol, a naturally occurring diphenolic compound, affects lipogenesis, lipolysis and the antilipolytic action of insulin in isolated rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* **113**: 17-24.
- Takahashi S & Nakashima Y (2012) Repeated and long-term treatment with physiological concentrations of resveratrol promotes NO production in vascular endothelial cells. *Br J Nutr* **107**: 774-780.
- Takaoka MJ (1940) Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. fil.). *J Faculty Sci Hokkaido Imperial University* **3**: 1-16.
- Takemura Y, Ouchi N, Shibata R & et al. (2007) Adiponectin modulates inflammatory reactions via calreticulin receptor-dependent clearance of early apoptotic bodies. *J Clin Invest* **117**: 375-386.
- Tang Y, Xu J, Qu W, Peng X & et al. (2012) Resveratrol reduces vascular cell senescence through attenuation of oxidative stress by SIRT1/NADPH oxidase-dependent mechanisms. *J Nutr Biochem* **23**: 1410-1416.
- Teoh H, Strauss MH, Szmítko PE & Verma S (2006) Adiponectin and myocardial infarction: a paradox or a paradigm? *Eur Heart J* **27**: 2266-2268.
- Tessitore L, Davit A, Sarotto I & Caderni G (2000) Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21(CIP) expression. *Carcinogenesis* **21**: 1619-1622.



- Thandapilly SJ, Wojciechowski P, Behbahani J, Louis XL & et al. (2010) Resveratrol prevents the development of pathological cardiac hypertrophy and contractile dysfunction in the SHR without lowering blood pressure. *Am J Hypertens* **23**: 192-196.
- Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B & Kono DH (2005) Type I interferons ( $\alpha/\beta$ ) in immunity and autoimmunity. *Annu Rev Immunol*. **23**: 307-336.
- Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, Juhasz B & et al. (2007) Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: role of nitric oxide, thioredoxin and heme oxygenase. *Free Radic Biol Med* **43**: 720-729.
- Tilg H & Moschen AR (2006) Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* **6**: 772-783.
- Tili E, Croce CM & Michaille JJ (2009) miR-155: on the crosstalk between inflammation and cancer. *International Reviews of Immunology* **28**: 264-284.
- Tili E, Michaille JJ, Adair B, Alder H, Limagne E, Taccioli C & et al. (2010) Resveratrol decreases the levels of miR-155 by upregulating miR-663, a microRNA targeting JunB and JunD. *Carcinogenesis* **31**: 1561-1566.
- Timmers S, Auwerx J & Schrauwen P (2012) The journey of resveratrol from yeast to human. *Aging* **4**: 146-158.
- Timmers S, Konings E, Bilet L, Houtkooper RH & et al. (2011) Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metab* **14**: 612-622.
- Tomás-Barberán FA, Cienfuegos-Jovellanos E, Marín A, Muguerza B & et al. (2007) A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. *J Agric Food Chem* **55**: 3926-3935.
- Ueno K, Hirata H, Majad S, Tabatabai ZL, Hinoda Y & Dahiya R (2011) IGFBP-4 activates the Wnt/ $\delta$ -catenin signaling pathway and induces M-CAM expression in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer* **129**: 2360-2369.
- Ulrich S, Loitsch SM, Rau O, von Knethen A & et al. (2006) Peroxisome proliferator-activated receptor gamma as a molecular target of resveratrol-induced modulation of polyamine metabolism. *Cancer Res* **66**: 7348-7354.
- Um JH, Park SJ, Kang H, Yang S & et al. (2010) AMP-activated protein kinase-deficient mice are resistant to the metabolic effects of resveratrol. *Diabetes* **59**: 554-563.
- Ungvari Z, Bagi Z, Feher A, Recchia FA & et al. (2010) Resveratrol confers endothelial protection via activation of the antioxidant transcription factor Nrf2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **299**: H18-24.
- Urpí-Sardà M, Jáuregui O, Lamuela-Raventós RM, Jaeger W & et al. (2005) Uptake of diet resveratrol into the human low-density lipoprotein. Identification and quantification of resveratrol metabolites by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Anal Chem* **77**: 3149-3155.
- Valcheva-Kuzmanova S, Kuzmanov K, Mihova V, Krasnaliev I, Borisova P & Belcheva A (2007) Antihyperlipidemic effect of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods Human Nutr* **62**: 19-24.

## **Bibliografia**

- Valenzano DR, Terzibas E, Genade T, Cattaneo A, Domenici L & Cellerino A (2006) Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short lived vertebrate. *Curr Biol* **16**.
- van de Wetering K, Burkon A, Feddema W, Bot A & et al. (2009) Intestinal breast cancer resistance protein (BCRP)/Bcrp1 and multidrug resistance protein 3 (MRP3)/Mrp3 are involved in the pharmacokinetics of resveratrol. *Mol Pharmacol* **75**: 876-885.
- Vanamala J, Reddivari L, Radhakrishnan S & Tarver C (2010) Resveratrol suppresses IGF-1 induced human colon cancer cell proliferation and elevates apoptosis via suppression of IGF-1R/Wnt and activation of p53 signaling pathways. *BMC Cancer* **10**: 238.
- Vang O, Ahmad N, Baile C, Baur J, Brown K, Csiszar A & et al. (2011) What Is New for an Old Molecule? Systematic Review and Recommendations on the Use of Resveratrol. *PLoS ONE* **6**: e19881.
- Vaz-da-Silva M, Loureiro AI, Falcao A, Nunes T & et al. (2008) Effect of food on the pharmacokinetic profile of trans-resveratrol. *Int J Clin Pharmacol Ther* **46**: 564-570.
- Veillard NR & Mach F (2002) Statins: the new aspirin? *Cell Mol Life Sci* **59**: 1771-1786.
- Veillard NR, Kwak B, Pelli G & et al. (2004) Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. *Circ Res* **94**: 253-261.
- Vergara D, Valente CM, Tinelli A, Siciliano C & et al. (2011) Resveratrol inhibits the epidermal growth factor-induced epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells. *Cancer Lett* **310**: 1-8.
- Vigna GB, Costantini F, Aldini G, et al. (2003) Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers. *Metabolism* **52**: 1250-1257.
- Vingtdeux V, Giliberto L, Zhao H, Chandakkar P & et al. (2010) AMP-activated protein kinase signaling activation by resveratrol modulates amyloid-beta peptide metabolism. *J Biol Chem* **285**: 9100-9113.
- Vinson JA, Proch J & Bose P (2001) MegaNatural (gold grape seed extract: in vitro antioxidant and in vivo human supplementation studies. *J Med Food* **4**.
- Visvikis-Siest S, Marteau JB, Samara A, Berrahmoune H, Marie B & Pfister M (2007) Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs): a possible model for studying cardiovascular biology systems. *Clin Chem Lab Med* **45**: 1154-1168.
- Vitaglione P, Sforza S, Galaverna G, Ghidini C & et al. (2005) Bioavailability of trans-resveratrol from red wine in humans. *Mol Nutr Food Res* **49**: 495-504.
- Vitrac X, Bornet A, Vanderlinde R, et al. (2005) Determination of stilbenes ( $\delta$ -viniferin, trans-astringin, trans-piceid, cis- and trans-resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin) in Brazilian wines. *J Agric Food Chem* **53**: 5664-5669.
- Vo N & Goodman RH (2001) CREB-binding protein and p300 in transcriptional regulation. *J Biol Chem* **276**: 13505-13508.
- Vogel C & Marcotte EM (2012) Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. *Nature Reviews Genetics* **13**: 227-232.
- Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, Balfour J, Chaves P, Fried LP & Harris TB (2001) Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation* **103**: 947-953.

- Walle T (2011) Bioavailability of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci* **1215**: 9-15.
- Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE, Jr & et al. (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos* **32**: 1377-1382.
- Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H & et al. (2002) Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* **106**: 1652-1658.
- Wang C, Wheeler CT, Alberico T, Sun X & et al. (2013) Wang C, Wheeler CT, Alberico T, Sun X, et al. The effect of resveratrol on lifespan depends on both gender and dietary nutrient composition in *Drosophila melanogaster*. *Age (Dordr)* **35**: 69-81.
- Wang F & Tong Q (2009) SIRT2 suppresses adipocyte differentiation by deacetylating FOXO1 and enhancing FOXO1's repressive interaction with PPARgamma. *Mol Biol Cell* **20**: 801-808.
- Wang H, Yang YJ, Qian HY, Zhang Q & et al. (2012) Resveratrol in cardiovascular disease: what is known from current research? *Heart Fail Rev* **17**: 437-448.
- Waterhouse NJ (2002) Wine polyphenolics. *Ann NY Acad Sci* **957**: 21-36.
- Waters MJ (2003) Seeking SOCS and sex steroids. *Trends Endocrinol Metab* **14**: 149-151.
- Weil BR, Greiner JJ, DeSouza CA & Stauffer BL (2011) Relation of C-reactive protein to endothelial Fibrinolytic function in healthy adults. *Am J Cardiol* **108**: 1675-1679.
- Weisel T, Baum M, Eisenbrand G & et al. (2006) An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Biotechnol J* **1**: 388-397.
- Wettenhall JM & Smyth GK (2004) limmaGUI: a graphical user interface for linear modeling of microarray data. *Bioinformatics* **20**: 3705-3706.
- Wheeler JG, Mussolino ME, Gillum RF & Danesh J (2004) Associations between differential leucocyte count and incident coronary heart disease: 1764 incident cases from seven prospective studies of 30,374 individuals. *Eur Heart J* **25**: 1287-1292.
- WHO (2003) Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Vol. 916 (Consultation JWFE, ed.^eds.), p.^pp. 1-149. World Health Organization, Geneva.
- WHO (2007) *A safer future : global public health security in the 21st century*. Geneva.
- Williamson G & Manach C (2005) Bioavailability and bioefficacy of Polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr* **81**: 243S-255S.
- Willrich MA, Hirata MH & Hirata RD (2009) Statin regulation of CYP3A4 and CYP3A5 expression. *Pharmacogenomics* **10**: 1017-1024.
- Wolpe SD, Sherry B, Juers D, Davatelis G, Yurt RW & Cerami A (1989) Identification and characterization of macrophage inflammatory protein 2. *Proc Nat Acad Sci*. **86**: 612-616.
- Wolter F, Akoglu B, Clausnitzer A & Stein J (2001) Downregulation of the cyclin D1/Cdk4 complex occurs during resveratrol-induced cell cycle arrest in colon cancer cell lines. *J Nutr* **131**: 2197-2203.
- Wong RH, Howe PR, Buckley JD, Coates AM & et al. (2011) Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **21**: 851-856.
- Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K & et al. (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* **430**: 686-689.

## **Bibliografia**

- Woods A, Brull DJ, Humphries SE & Montgomery HE (2000) Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* **21**: 1574-1583.
- Wu A, Ying Z & Gomez-Pinilla F (2006) Oxidative stress modulates Sir2alpha in rat hippocampus and cerebral cortex. *Eur J Neurosci* **23**: 2573-2580.
- Wu Y, Jia LL, Zheng YN, Xu XG & et al. (2012) Resveratrate protects human skin from damage due to repetitive ultraviolet irradiation. *J Eur Acad Dermatol Venereol*.
- Wyke SM, Russell ST & Tisdale MJ (2004) Induction of proteasome expression in skeletal muscle is attenuated by inhibitors of NF-kappaB activation. *Br J Cancer* **91**: 1742-1750.
- Xia M, Ling W, Zhu H, et al. (2007) Anthocyanin prevents CD40-activated proinflammatory signaling in endothelial cells by regulating cholesterol distribution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **27**: 519-524.
- Xia N, Daiber A, Habermeier A, Closs EI & et al. (2010) Resveratrol reverses endothelial nitric-oxide synthase uncoupling in apolipoprotein E knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* **335**: 149-154.
- Xia X, Ling W, Ma J, et al. (2006) An anthocyanin-rich extract from black rice enhances atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr* **136**: 2220-2225.
- Xiao Y, Xu C, Guan J, Ping Y, Fan H, Li Y & et al. (2012) Discovering dysfunction of multiple microRNAs cooperation in disease by a conserved microRNA co-expression network. *PLoS One* **7**: e32201.
- Xu Q, Hao X, Yang Q & L. S (2009) Resveratrol prevents hyperglycemia-induced endothelial dysfunction via activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* **388**: 389-394.
- Yamashita H, Shimada K, Seki E, Mokuno H & Daida H (2003) Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* **91**: 133-136.
- Yang J, Wang N, Li J, Zhang J & et al. (2010) Effects of resveratrol on NO secretion stimulated by insulin and its dependence on SIRT1 in high glucose cultured endothelial cells. *Endocrine* **37**: 365-372.
- Yang YM, Chen JZ, Wang XX, Wang SJ & et al. (2008) Resveratrol attenuates thromboxane A2 receptor agonist induced platelet activation by reducing phospholipase C activity. *Eur J Pharmacol* **583**: 148-155.
- Yao LH, Jiang YM, Tomas-Barberán FA, Datta N, Singanusong R & Chen SS (2004) Flavonoids in food and their benefits. *Plant Food Hum Nutr* **59**: 113-122.
- Yassin MM, Altibi HI & Elshanti AF (2011) Clinical and biochemical features of type 2 diabetic patients in Gaza Governorate, Gaza Strip. *West African Journal of Medicine* **30**: 51-56.
- Yoshida S, Ono M, Shono T, Izumi H, Ishibashi T, Suzuki H & Kuwano M (1997) Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblasts growth factor in tumor necrosis factor alpha-dependent angiogenesis. *Mol Cell Biol* **17**: 4015-4023.
- Yoshino J, Conte C, Fontana L, Mittendorfer B & et al. (2012) Resveratrol supplementation does not improve metabolic function in nonobese women with normal glucose tolerance. *Cell Metab* **16**: 658-664.

- Yu H, Pan C, Zhao S, Wang Z & et al. (2008) Resveratrol inhibits tumor necrosis factor-alpha-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *Biomed Pharmacother* **62**: 366-372.
- Yuan Y, Xue X, Guo RB, Sun X, L. & et al. (2012) Resveratrol enhances the antitumor effects of temozolomide in glioblastoma via ROS-dependent AMPK-TSC-mTOR signaling pathway. *CNS Neurosci Ther* **18**: 536-546.
- Yubero N, Sanz-Buenhombre M, Guadarrama A, Villanueva S, Carrión JM, Larrarte E & Moro C (2012) LDL cholesterol-lowering effects of grape extract used as a dietary supplement on healthy volunteers. *Int J Food Sci Nutr* [Epub ahead of print].
- Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE & Mohamed-Ali V (2000) Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* **148**: 209-214.
- Zamora-Ros R, Urpí-Sardà M, Lamuela-Raventós RM, Estruch R & et al. (2006) Diagnostic performance of urinary resveratrol metabolites as a biomarker of moderate wine consumption. *Clin Chem Lab Med* **52**: 1373-1380.
- Zamora-Ros R, Andres-Lacueva C, Lamuela-Raventós RM, Berenguer T & et al. (2008) Concentrations of resveratrol and derivatives in foods and estimation of dietary intake in a Spanish population: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Spain cohort. *Br J Nutr* **100**: 188-196.
- Zargochev L & Mulligan-Keboe MJ (2011) Advances in imaging angiogenesis and inflammation in atherosclerosis. *Thromb Haemost* **105**: 820-827.
- Zdunczyk Z, Frejnagel S, Wroblewska M, Juskiwicz J, Ozmiński J & Estrella I (2002) Biological activity of polyphenols extracts from different plant sources. *Food Res Intern* **35**: 183-186.
- Zern TL, Wood RJ, Greene C, K.L. W & et al. (2005) Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. *J Nutr* **135**: 1911-1917.
- Zhang F, Shi JS, Zhou H, Wilson B & et al. (2010) Resveratrol protects dopamine neurons against lipopolysaccharide-induced neurotoxicity through its anti-inflammatory actions. *Mol Pharmacol* **78**: 466-477.
- Zhou S, Eid K & Glowacki J (2004) Cooperation between TGF- $\beta$  and Wnt pathways during chondrocyte and adipocyte differentiation of human marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* **19**: 463-470.
- Zhou Y, Wei Y, Wang L & et al. (2011) Decreased adiponectin and increased inflammation expression in epicardial adipose tissue in coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol* **10**: 2.
- Zhu W, Cheng KK, Vanhoutte PM, Lam KS & Xu A (2008) Vascular effects of adiponectin: molecular mechanisms and potential therapeutic intervention. *Clin Sci* **114**: 361-374.
- Zhu W, Qin W, Zhang K, Rottinghaus GE & et al. (2012) Trans-resveratrol alters mammary promoter hypermethylation in women at increased risk for breast cancer. *Nutr Cancer* **64**: 393-400.
- Ziegler CC, Rainwater L, Whelan J & McEntee M, F. (2004) Dietary resveratrol does not affect intestinal tumorigenesis in Apc (Min/+) mice. *J Nutr* **134**: 5-10.

## **Bibliografia**

Zunino SJ, Storms DH, Newman JW, Pedersen TL & et al. (2012) Resveratrol given intraperitoneally does not inhibit the growth of high-risk t (4;11) acute lymphoblastic leukemia cells in a NOD/SCID mouse model. *Int J Oncol* **40**: 1277-1284.

# **Anexos**





# **Anexo 1**



## Anexo 1

### **Tablas Suplementarias**

#### ***Ensayos in vitro:***

**Tabla suplementaria 1.1.** Efectos del RES y mecanismos relacionados en células humanas cancerígenas.

**Tabla suplementaria 1.2.** Efectos neuroprotectores del RES en modelos *in vitro*.

**Tabla suplementaria 1.3.** Efectos del RES en las células humanas asociadas al entorno vascular.

**Tabla suplementaria 1.4.** Efectos anti-envejecimiento del RES en modelos *in vitro*.

#### ***Ensayos en animales modelo:***

**Tabla suplementaria 1.5.** Efectos quimiopreventivos del RES en el cáncer y mecanismos relacionados en animales modelo.

**Tabla suplementaria 1.6.** Efectos de la exposición al RES en animales modelo de enfermedad cardiovascular.

**Tabla suplementaria 1.7.** Efectos de la exposición al RES en los niveles de insulina, glucosa y lípidos de modelos animales de obesidad, diabetes y trastornos metabólicos.

**Tabla suplementaria 1.8.** Dianas anti-inflamatorias del RES en animales modelo y mecanismos relacionados.

**Tabla suplementaria 1.9.** Efectos neuroprotectores del RES en modelos animales.

**Tabla suplementaria 1.10.** Efectos anti-envejecimiento del RES en modelos animales.

**Anexo 1**

**Tabla suplementaria 1.1.** Efectos del RES y mecanismos relacionados en células humanas cancerígenas.

Modelo de Cáncer	Línea celular Humana	Tratamiento	Efectos y Mecanismos	Referencia
Colon	HT-29	100-150 $\mu$ M / 24-72h	$\uparrow$ apoptosis; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\downarrow$ PPP; $\downarrow$ ciclina-D1	1
		100-150 $\mu$ M / 24-72h	$\uparrow$ apoptosis; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\downarrow$ Ruta Wnt; $\uparrow$ p27	2
		IC <sub>50</sub> =78.9 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ proliferación celular	3
		IC <sub>50</sub> =276 $\mu$ M / 24h	$\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 3	4
		50-400 $\mu$ M / 24h	$\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ AMPK	4
	RK2	50-100 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>2</sub> ; $\downarrow$ cdk7, p34cdc2 quinasa	5
		2.5-40 $\mu$ M / 48h	$\downarrow$ proliferación celular; $\downarrow$ ruta Wnt	6
	Caco-2	10-50 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>2</sub> /M; $\downarrow$ actividad de OCD	7
		50-200 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>2</sub> /M; $\downarrow$ ciclina-D1, cdk4; $\uparrow$ ciclina-E,-A;	8
	Caco-2, HCT-116	30-200 $\mu$ M / 24-72h	$\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 3 $\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ p38 $\uparrow$ sirt1; $\uparrow$ PPAR $\gamma$ coactivador PGC-1 $\alpha$	9
	HCT-116	10-100 $\mu$ M / 24-72h	$\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 2, 8	10
	SW480, SW620, HT-29	IC <sub>50</sub> $\approx$ 30 $\mu$ M / 48h	$\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ ERK, JNK, Akt	11
DLD1	100 $\mu$ M / 48h	$\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 3	12	
Próstata	LNCaP, PC-3	1-150 $\mu$ M / 12-72h	$\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 3, 9; cambio en la proporción Bax/Bcl-2; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\downarrow$ ciclina-B, cdk1, actividad de ciclina-B/cdk1 quinasa; $\downarrow$ ciclina-D1, -E, cdk 4, actividad ciclina de D1/cdk4 quinasa; $\uparrow$ p53, p21, y p27 (solamente células LNCaP)	13
	LNCaP	1-50 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 3, 9; cambio en la proporción Bax/Bcl-2; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\downarrow$ PI3K, p-Akt, Bcl-2; $\uparrow$ Bax, Bak, Bid, y Bad	14
	LNCaP, DU145	1-100 $\mu$ M / 24-72h	$\uparrow$ apoptosis; $\downarrow$ MTA1/NuRD; $\uparrow$ p53, p21, Bax	15
	LNCaP	1- 25 $\mu$ M / 24-72h	interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\uparrow$ inhibidor 1A y B de cdk	16
	Células PC-3	1-50 $\mu$ M / 24h	$\uparrow$ inhibición de proliferación y apoptosis inducida por XRT; $\uparrow$ p15, p21, p53; $\downarrow$ ciclina-B, -D y cdk2; $\uparrow$ p-H2A.X	17
	PC3, CWR22rv1	2.5-10 $\mu$ M / 7-10 días	$\uparrow$ inhibición de proliferación y apoptosis inducida por IR; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\uparrow$ p27, p21, p53; $\downarrow$ caspasa 3; $\downarrow$ p-Akt	18
	LNCaP	1-50 $\mu$ M / 24-72h	$\uparrow$ p53R2, p21; $\downarrow$ Expresión de PSA	19

**Anexo 1**

		20 $\mu$ M / 1-48h	$\uparrow$ apoptosis; $\downarrow$ p-PI3K, p-Akt y mTOR; $\downarrow$ p-FOXO; $\uparrow$ Bim, TRAIL, p27/KIP1, DR4 y DR5; $\downarrow$ ciclina-D1	20
	LNCaP, DU-145, CWR22rv1	1-50 $\mu$ M / 1-5 días	$\downarrow$ proliferación celular; $\downarrow$ PTEN; $\uparrow$ AR; $\downarrow$ EGFR; $\downarrow$ PI3K/Akt	21
Hígado	HepG2	10 <sup>-6</sup> -1 $\mu$ M / 6 días	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> y G <sub>2</sub> /M; $\uparrow$ apoptosis; $\downarrow$ ROS; $\uparrow$ iNOS	22
		50, 100 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ invasión celular; $\downarrow$ MMP-9, NF- $\kappa$ B	23
		1-100 $\mu$ M / 24-72h	$\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ NADPH; $\uparrow$ iNOS	24
		10-300 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\downarrow$ Ciclina-D1; $\downarrow$ p-p38, Akt, Pak1; $\uparrow$ p-ERK	25
		2.5-320 $\mu$ M / 1-48h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\uparrow$ apoptosis	26
	Huh-7	IC <sub>50</sub> =22.4 $\mu$ M	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\downarrow$ ciclina -A, -E y cdk 2; $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ p53, p21/WAF1; $\downarrow$ p-ERK, p-p38; $\uparrow$ proteínas relacionadas con autofagia Atg5, Atg7, Atg9, y Atg12	27
	SK-HEP-1	50-250 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ apoptosis/caspasa 3; $\downarrow$ ROS	28
	HepG2,	1-100 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ TIMP-1, -2; $\downarrow$ MMP-2, -9	29
	Hep3B	10, 20 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ p21, Bax, p53	30
	Mama	MCF-7, MDA-MB-231	10-200 $\mu$ M / 12-60h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> (MDA-MB-231) y S (MCF-7); $\uparrow$ apoptosis (MCF-7); $\uparrow$ p21, p27, p53
1-100 $\mu$ M / 48h			$\downarrow$ proliferación celular; $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ Bax, p21	32
1-50 $\mu$ M / 48h			$\downarrow$ proliferación celular; $\downarrow$ ruta PI3K/Akt; $\downarrow$ ruta mTOR/p70S6K; $\downarrow$ activación de Akt inducida por rapamicina	33
1-50 $\mu$ M / 72h			$\downarrow$ formación de colonias; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> (MDA-MB-231); interrupción del ciclo celular en S y G <sub>2</sub> /M (in MCF-7); $\downarrow$ ciclina-B,-D1; $\downarrow$ Rb, E2F; $\uparrow$ p53, p21; $\uparrow$ p-ERK, p-p38	34
MCF-7		IC <sub>50</sub> =120, 370 $\mu$ M / 24h, respectivamente	$\uparrow$ citotoxicidad y apoptosis de Akt inducida por melfalan; $\uparrow$ p53, caspasa 7, 9, p-Chk2; $\downarrow$ procaspasa 8; interrupción del ciclo celular en S; $\downarrow$ ciclina-A, p-CDK2	35
MCF-7		10, 50 $\mu$ M / 2-6 días	$\downarrow$ proliferación celular; $\downarrow$ activación de NF- $\kappa$ B inducida por TNF- $\alpha$	36
MCF-7		1-150 $\mu$ M / 36h	$\uparrow$ apoptosis; $\downarrow$ Bcl-2; $\uparrow$ ROS, NO; $\downarrow$ NF- $\kappa$ B; $\downarrow$ MMP-9; $\downarrow$ actividad y migración celular	37
MCF-7		5- 40 $\mu$ M / 24-72h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S; $\uparrow$ apoptosis; $\downarrow$ actividad de la telomerasa	38
MCF-7		5-20 $\mu$ M / 90 min	$\uparrow$ acumulación de ADN; $\uparrow$ AhR; $\downarrow$ BRCA-1	39
MCF-7		16-64 $\mu$ M / 24-72h	$\downarrow$ proliferación celular; $\downarrow$ formación de colonias; $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ caspasa 3; $\downarrow$ p-Akt/PKB y mTOR	40
MCF-7		25 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ transición epitelio-mesenquimal (EMT) inducida por EGF	41
MCF-7		50-100 $\mu$ M / 24-48h	$\downarrow$ proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> (MCF-7); $\uparrow$ apoptosis; $\uparrow$ NHE-1 y NHE-3; $\uparrow$ absorción de NaCl; $\downarrow$ pH	42

**Anexo 1**

	MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-468	10 $\mu$ M / 1-7 días	↓crecimiento de tumores; ↓ acetilación de STAT-3	43
	MDA-MB-231	5–50 $\mu$ M / 12h	↓migración inducida por EGF; ↓MED28, MMP-9; ↓EGFR/PI3K; ↓actividad de NF- $\kappa$ B	44
Leucemia-Linfoma	K562	40 $\mu$ M / 1-12h	↑apoptosis; ↓p-Akt; ↓PI3K/Akt actividad; ↑ERK1/2 actividad	45
		1-100 $\mu$ M / 24h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↑marcadores UPR	46
		50 $\mu$ M / 48h	↑autofagia; ↑JNK-p62, AMPK; ↓ruta mTOR	47
	K562/IMA-3, K562	1-100 $\mu$ M / 24h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑caspasa 3	48
	K562, U937, KCL22, HL-60, THP1, WSU-CLL	1-100 $\mu$ M / 72h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>2</sub> /M e S; ↑ciclinas-A, -B; ↑apoptosis; ↑caspasas actividad; ↓formación de colonias	49
	HL-60	2.5-320 $\mu$ M / 1-48h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis	36
		1-200 $\mu$ M / 24-48h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↓Bcl-2; ↑caspasa 3; ↑Bax, Anexina A1; ↑daño del ADN	50
	OCI-LY8	25 $\mu$ M / 24h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↓Bcl-6; ↑p27, p53 y CD69; ↓c-mic	51
	OCI-LY8, OCI-LY1	25, 50 $\mu$ M / 24h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↓p-Akt, p-p70 S6K, S6 y FOXO; ↓PI3K; ↓metabolismo de la glucosa	52
	AML-2	1-100 $\mu$ M / 24-72h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↓MRP1	53
	U937, MV-4-11	25-50 $\mu$ M / 24-48h	↑citotoxicidad inducida por LBH-589 y vorinostat; ↑apoptosis; ↑daño del ADN; ↑DR5, caspasa-8; ↑ROS	54
Melanoma	B16/DOX	1-500 $\mu$ M / 24-72h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↓ciclina-D1/cdk4; ↑p53	55
	B16F10, B16BL6	100 $\mu$ M / 4-24h	↓migración celular e invasión; ↓Akt	56
	DM443, DM738	1-100 $\mu$ M / 1-4 días	↓proliferación celular; ↑citotoxicidad inducida por TMZ	57
Mieloma	RPMI8226, OPM-2	1-100 $\mu$ M / 1-3 días	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↓NF- $\kappa$ B	58
	U266, RPMI8226, MM.1R	50 $\mu$ M / 1-6 días	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑ citotoxicidad inducida por bortezomib y talidomida; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↓ciclina-D1, cIAP-2, XIAP, survivina, Bcl-2, Bcl-xL, Bfl-1/A1, y TRAF2; ↑Bax, caspasa 3; ↓NF- $\kappa$ B; ↓I $\kappa$ B $\alpha$ quinasa; ↑p- I $\kappa$ B $\alpha$ , p-p65; ↓IL-6; ↑STAT-3	59
Glioma	U251	25 $\mu$ M / 1-15 días	↓proliferación celular; ↓migración celular; ↓p-Akt; ↓ciclina-D1/caspasa 3; ↓formación de colonias	60

**Anexo 1**

		1-100 $\mu$ M / 24-48h	↓proliferación celular; ↓SULTs	61
	U-87MG	20–80 $\mu$ M / 48h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S	62
		10–200 $\mu$ M / 24-96h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S; ↑Bax; ↓migración celular y invasión	63
	U-87MG, GBM8401, GBM-SKH	30 $\mu$ M / 24-48h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑autofagia; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>2</sub> /M; ↑Atg5, beclin-1 y LC3-II; ↑Bax, Caspasa 3; ↑pCdc2(Y15), ciclina-A, -E, -B, y Rb; ↓ciclina-D1	64
		1-20 $\mu$ M / 1h	↓proliferación celular; ↑citotoxicidad inducida por TMZ	65
Vesícula	T24	1–200 $\mu$ M / 24h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↑p21; ↓p-Akt, p-Rb; ↓ciclina-D1, cdk4; ↑p-p38; ↓VEGF, FGF-2	66
		50–100 $\mu$ M / 24-48h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑ROS; ↑caspasa 3, 9; ↓ATP; ↑Cit-c	67
	ECV304	1–100 $\mu$ M / 24-48h	↑apoptosis; ↑Bad/Bcl-2 ratio; ↑NO; ↓daño oxidativo; ↓activación de neutrófilos	68
Meduloblastoma	UW228-3	100 $\mu$ M / 1-48h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ; ↑apoptosis; ↓SULTs	69
	UW228-3, UW228-2	100 $\mu$ M / 1-48h	↑apoptosis; ↓NF- $\kappa$ B, Bcl-2; ↓I $\kappa$ B $\alpha$	70
		100 $\mu$ M / 1-48h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S; ↓c-mic; ↑apoptosis	71
Endometrial	HEC1B	1-100 $\mu$ M / 24-48h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↓beta-arrestina 2; ↑caspasa 3; ↓Akt/GSK3 $\beta$	72
Gástrico	SGC7901	50-200 $\mu$ M / 48h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑ROS; ↑daño del ADN	73
	AGS	500 nM / 1-24h	↓proliferación celular inducida por H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; ↓MEK1/2-ERK1/2-c-Jun	74
	HGC-27	50 $\mu$ M / 24h	↑apoptosis; ↑autofagia; ↓dihidroceraamida desaturasa	75
Tiroides	MTC	1-100 $\mu$ M / 4-6 días	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑Notch2; ↑caspasa 3, PARP; ↓ASCL1, CgA	76
	BHP 2–7, BHP 18–21, FTC 236, FTC 238	0.1-100 $\mu$ M / 4-24h	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑p-ERK1/2; ↑p-p53, c-fos, c-jun, p21; ↓ASCL1, CgA	77
Osteosarcoma	HOS, MG-63	1-100 $\mu$ M / 3-7 días	↓proliferación celular; ↑apoptosis	78
	Saos-2, U-2 OS, SJSA1	1-100 $\mu$ M / 1-3 días	↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑p-ERK1/2; ↑p-p53, c-fos, c-jun, p21; ↓ASCL1, CgA	79
Retinoblastoma	Y79	1-100 $\mu$ M / 24-96h	↓proliferación celular; interrupción del ciclo celular en S; ↓potencial de membrana mitocondrial; ↑Cit-c, caspasa 3, 9	80

AhR, receptor de hidrocarburos de aril; Akt, proteína quinasa de serina/treonina; AMPK, proteína quinasa activada por adenosina monofosfato; AR, receptor de los andrógenos; ASPP1, proteína estimuladora de la acción apoptótica del p53 1; Atg, proteínas de autofagia; ATP, adenosina trifosfato; Bcl-2, Linfoma de células B -2; BRCA-1, proteína de

## Anexo 1

susceptibilidad a cáncer de mama tipo 1; cIAPs, proteínas inhibidoras de apoptosis ; Cit-c, citocromo C; cdk, quinasa dependiente de ciclinas-; DR4/5, miembro de la superfamilia de los receptores de TNF alfa 10a/10b; E2F, factor de transcripción E2F; EGFR, receptor de los factores de crecimiento endoteliales; ERK, quinasa regulada por señales extracelulares; FOXO, factor de transcripción en forma de horquilla; IC50, 50% de la concentración inhibitoria máxima; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; IR, radiación ionizante; JNK-1, quinasa N-terminal de c-Jun; MED28, mediador de la subunidad de transcripción de la ARN polimerasa II 28; MEK1/2, quinasa de la proteína quinasa activada por mitogenos1/2; MMP, metaloproteínasa de la matriz; MRP1, proteína relacionada con la motilidad 1; MTA1, proteína asociada a la metástasis; mTOR, diana de la rapamicina en los mamíferos; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; NF-κB, factor nuclear kappa B; NFκBIA, inhibidor del NF-κB alfa; NHE, proteína intercambiadora de sodio-hidrógeno; NO, óxido nítrico; ODC, ornitina descarboxilasa; p53, proteína tumoral 53; p21Waf1/Cip1, inhibidor de quinasa dependiente de ciclinas 1A; p27, inhibidor de quinasa dependiente de ciclinas 27; PI3K, quinasas de fosfoinositol 3; PTEN, homólogo de la fosfatasa y tensina; PPARγ, receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas; PPP, ruta de las pentosa fosfato; Rb, gene supresor del tumor de retinoblastoma; ROS, especies reactivas de oxígeno; Sirt1, sirtuina 1; STAT-3, transductor de señales y activador de transcripción3; SULTs, sulfotransferasas; TIMP, inhibidores tisulares de metaloproteinasas; TMZ, temozolomida; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa; TRAIL, ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF alfa; UPR, respuesta a proteínas desplegadas; XRT, telescopio de rayos X. El efecto se indica por ↓: reducción; ↑: inducción; p-: estado de fosforilación.



## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.1.

- [1] Vanamala J, Radhakrishnan S, Reddivari L, Bhat VB, *et al.* Resveratrol suppresses human colon cancer cell proliferation and induces apoptosis via targeting the pentose phosphate and the talin-FAK signaling pathways-A proteomic approach. *Proteome Sci* 2011; 9: 49.
- [2] Vanamala J, Reddivari L, Radhakrishnan S, Tarver C. Resveratrol suppresses IGF-1 induced human colon cancer cell proliferation and elevates apoptosis via suppression of IGF-1R/Wnt and activation of p53 signaling pathways. *BMC Cancer* 2010; 10: 238.
- [3] Juan ME, Wenzel U, Daniel H, Planas JM. Resveratrol induces apoptosis through ROS-dependent mitochondria pathway in HT-29 human colorectal carcinoma cells. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 4813-8.
- [4] Hwang JT, Kwak DW, Lin SK, Kim HM, *et al.* Resveratrol induces apoptosis in chemoresistant cancer cells via modulation of AMPK signaling pathway. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1095: 441-8.
- [5] Liang YC, Tsai SH, Chen L, Lin-Shiau SY, *et al.* Resveratrol-induced G2 arrest through the inhibition of CDK7 and p34CDC2 kinases in colon carcinoma HT29 cells. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 1053-60.
- [6] Hope C, Planutis K, Planutiene M, Moyer MP, *et al.* Low concentrations of resveratrol inhibit Wnt signal throughput in colon-derived cells: implications for colon cancer prevention. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: S52-61.
- [7] Schneider Y, Vincent F, Duranton B, Badolo L, *et al.* Antiproliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. *Cancer Lett* 2000; 158: 85-91.
- [8] Wolter F, Akoglu B, Clausnitzer A, Stein J. Downregulation of the cyclin D1/Cdk4 complex occurs during resveratrol-induced cell cycle arrest in colon cancer cell lines. *J Nutr* 2001; 131: 2197-203.
- [9] Ulrich S, Loitsch SM, Rau O, von Knethen A, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma as a molecular target of resveratrol-induced modulation of polyamine metabolism. *Cancer Res* 2006; 66: 7348-54.
- [10] Mohan J, Gandhi AA, Bhavya BC, Rashmi R, *et al.* Caspase-2 triggers Bax-Bak-dependent and -independent cell death in colon cancer cells treated with resveratrol. *J Biol Chem* 2006; 281: 17599-611.

## Anexo 1

- [11] Colin D, Limagne E, Jeanningros S, Jacquel A, *et al.* Endocytosis of resveratrol via lipid rafts and activation of downstream signaling pathways in cancer cells. *Cancer Prev Res* 2011; 4: 1095-106.
- [12] Trincheri NF, Nicotra G, Follo C, Castino R, *et al.* Resveratrol induces cell death in colorectal cancer cells by a novel pathway involving lysosomal cathepsin D. *Carcinogenesis* 2007; 28: 922-31.
- [13] Benitez DA, Pozo-Guisado E, Alvarez-Barrientos A, Fernandez-Salguero PM, *et al.* Mechanisms involved in resveratrol-induced apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer-derived cell lines. *J Androl* 2007; 28: 282-93.
- [14] Aziz MH, Nihal M, Fu VX, Jarrard DF, *et al.* Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 1335-41.
- [15] Kai L, Samuel SK, Levenson AS. Resveratrol enhances p53 acetylation and apoptosis in prostate cancer by inhibiting MTA1/NuRD complex. *Int J Cancer* 2010; 126: 1538-48.
- [16] Wang TT, Schoene NW, Kim YS, Mizuno CS, *et al.* Differential effects of resveratrol and its naturally occurring methylether analogs on cell cycle and apoptosis in human androgen-responsive LNCaP cancer cells. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 335-44.
- [17] Fang Y, DeMarco VG, Nicholl MB. Resveratrol enhances radiation sensitivity in prostate cancer by inhibiting cell proliferation and promoting cell senescence and apoptosis. *Cancer Sci* 2012; 103: 1090-8.
- [18] Rashid A, Liu C, Sanli T, Tsiani E, *et al.* Resveratrol enhances prostate cancer cell response to ionizing radiation. Modulation of the AMPK, Akt and mTOR pathways. *Radiat Oncol* 2011; 6: 144.
- [19] Hsieh TC, Huang YC, Wu JM. Control of prostate cell growth, DNA damage and repair and gene expression by resveratrol analogues, *in vitro*. *Carcinogenesis* 2011; 32: 93-101.
- [20] Chen Q, Ganapathy S, Singh KP, Shankar S, *et al.* Resveratrol induces growth arrest and apoptosis through activation of FOXO transcription factors in prostate cancer cells. *PLoS One* 2010; 5: e15288.
- [21] Wang Y, Romigh T, He X, Orloff MS, *et al.* Resveratrol regulates the PTEN/AKT pathway through androgen receptor-dependent and -independent mechanisms in prostate cancer cell lines. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 4319-29.

## Anexo 1

- [22] Notas G, Figli A, Kampa M, Vercauteren J, *et al.* Resveratrol exerts its antiproliferative effect on HepG2 hepatocellular carcinoma cells, by inducing cell cycle arrest, and NOS activation. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760: 1657-66.
- [23] Yu H, Pan C, Zhao S, Wang Z, *et al.* Resveratrol inhibits tumor necrosis factor-alpha-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *Biomed Pharmacother* 2008; 62: 366-72.
- [24] Colin D, Lancon A, Delmas D, Lizard G, *et al.* Antiproliferative activities of resveratrol and related compounds in human hepatocyte derived HepG2 cells are associated with biochemical cell disturbance revealed by fluorescence analyses. *Biochimie* 2008; 90: 1674-84.
- [25] Parekh P, Motiwale L, Naik N, Rao KV. Downregulation of cyclin D1 is associated with decreased levels of p38 MAP kinases, Akt/PKB and Pak1 during chemopreventive effects of resveratrol in liver cancer cells. *Exp Toxicol Pathol* 2011; 63: 167-73.
- [26] Stervbo U, Vang O, Bonnesen C. Time- and concentration-dependent effects of resveratrol in HL-60 and HepG2 cells. *Cell Prolif* 2006; 39: 479-93.
- [27] Liao PC, Ng LT, Lin LT, Richardson CD, *et al.* Resveratrol arrests cell cycle and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma Huh-7 cells. *J Med Food* 2010; 13: 1415-23.
- [28] Choi HY, Chong SA, Nam MJ. Resveratrol induces apoptosis in human SK-HEP-1 hepatic cancer cells. *Cancer Gen Prot* 2009; 6: 263-8.
- [29] Weng CJ, Wu CF, Huang HW, Wu CH, *et al.* Evaluation of anti-invasion effect of resveratrol and related methoxy analogues on human hepatocarcinoma cells. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 2886-94.
- [30] Kuo PL, Chiang LC, Lin CC. Resveratrol- induced apoptosis is mediated by p53-dependent pathway in Hep G2 cells. *Life Sci* 2002; 72: 23-34.
- [31] Pozo-Guisado E, Alvarez-Barrientos A, Mulero-Navarro S, Santiago-Josefat B, *et al.* The antiproliferative activity of resveratrol results in apoptosis in MCF-7 but not in MDA-MB-231 human breast cancer cells: cell-specific alteration of the cell cycle. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1375-86.
- [32] Shi Y, Yang S, Troup S, Lu X, *et al.* Resveratrol induces apoptosis in breast cancer cells by E2F1-mediated up-regulation of ASPP1. *Oncol Rep* 2011; 25: 1713-9.

## Anexo 1

- [33] He X, Wang Y, Zhu J, Orloff M, *et al.* Resveratrol enhances the anti-tumor activity of the mTOR inhibitor rapamycin in multiple breast cancer cell lines mainly by suppressing rapamycin-induced AKT signaling. *Cancer Lett* 2011; 301: 168-76.
- [34] Hsieh TC, Wong C, John Bennett D, Wu JM. Regulation of p53 and cell proliferation by resveratrol and its derivatives in breast cancer cells: an in silico and biochemical approach targeting integrin  $\alpha\beta3$ . *Int J Cancer* 2011; 129: 2732-43.
- [35] Casanova F, Quarti J, da Costa DC, Ramos CA, *et al.* Resveratrol chemosensitizes breast cancer cells to melphalan by cell cycle arrest. *J Cell Biochem* 2012; 113: 2586-96.
- [36] Banerjee S, Bueso-Ramos C, Aggarwal BB. Suppression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: role of nuclear factor-kappaB, cyclooxygenase 2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Res* 2002; 62: 4945-54.
- [37] Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S, Lorenzo-Benayas MJ, *et al.* Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-kappaB. *Int J Cancer* 2005; 115:74-84.
- [38] Lanzilli G, Fuggetta MP, Tricarico M, Cottarelli A, *et al.* Resveratrol down-regulates the growth and telomerase activity of breast cancer cells *in vitro*. *Int J Oncol* 2006; 28: 641-8.
- [39] Papoutsis AJ, Lamore SD, Wondrak GT, Selmin OI, *et al.* Resveratrol prevents epigenetic silencing of BRCA-1 by the aromatic hydrocarbon receptor in human breast cancer cells. *J Nutr* 2010; 140: 1607-14.
- [40] Scarlatti F, Maffei R, Beau I, Codogno P, *et al.* Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells. *Cell Death Differ* 2008; 15: 1318-29.
- [41] Vergara D, Valente CM, Tinelli A, Siciliano C, *et al.* Resveratrol inhibits the epidermal growth factor-induced epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells. *Cancer Lett* 2011; 310: 1-8.
- [42] Mehdawi H, Alkhalaf M, Khan I. Role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in resveratrol-induced growth inhibition of human breast cancer cells. *Med Oncol* 2012; 29: 25-32.
- [43] Lee MF, Pan MH, Chiou YS, Cheng AC, *et al.* Resveratrol modulates MED28 (Magicin/EG-1) expression and inhibits epidermal growth factor (EGF)-induced migration in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 11853-61.

## Anexo 1

- [44] Lee H, Zhang P, Herrmann A, Yang C, *et al.* Acetylated STAT-3 is crucial for methylation of tumor-suppressor gene promoters and inhibition by resveratrol results in demethylation. *Proc Natl Acad Sci* 2012; 109: 7765-9.
- [45] Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Raha S. Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. *PLoS One* 2010; 5: e8719.
- [46] Liu BQ, Gao YY, Niu XF, Xie JS, *et al.* Implication of unfolded protein response in resveratrol-induced inhibition of K562 cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 778-2.
- [47] Puissant A, Robert G, Fenouille N, Luciano F, *et al.* Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. *Cancer Res* 2010; 70: 1042-52.
- [48] Can G, Cakir Z, Kartal M, Gunduz U, *et al.* Apoptotic effects of resveratrol, a grape polyphenol, on imatinib-sensitive and resistant K562 chronic myeloid leukemia cells. *Anticancer Res* 2012; 32: 2673-8.
- [49] Ferry-Dumazet H, Garnier O, Mamani-Matsuda M, Dupouy M, *et al.* Transresveratrol inhibits the growth and induces the apoptosis of both normal and leukemic hematopoietic cells. *Carcinogenesis* 2002; 23: 1327-33.
- [50] Li G, He S, Chang L, Lu H, *et al.* GADD45 $\alpha$  and annexin A1 are involved in the apoptosis of HL-60 induced by resveratrol. *Phytomedicine* 2011; 18: 704-9.
- [51] Faber AC, Chiles TC. Resveratrol induces apoptosis in transformed follicular lymphoma OCI-LY8 cells: evidence for a novel mechanism involving inhibition of BCL6 signaling. *Int J Oncol* 2006; 29: 1561-6.
- [52] Faber AC, Dufort FJ, Blair D, Wagner D, *et al.* Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase-mediated glucose metabolism coincides with resveratrol-induced cell cycle arrest in human diffuse large B-cell lymphomas. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1246-56.
- [53] Kweon SH, Song JH, Kim TS. Resveratrol-mediated reversal of doxorubicin resistance in acute myeloid leukemia cells via downregulation of MRP1 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 395: 104-10.

## Anexo 1

- [54] Yaseen A, Chen S, Hock S, Rosato R, Dent P, Dai Y, Grant S. Resveratrol Sensitizes AML Cells to HDAC Inhibitors via ROS-Mediated Activation of the Extrinsic Apoptotic Pathway. *Mol Pharmacol.* 2012; doi:10.1124/mol.112.079624.
- [55] Gatouillat G, Balasse E, Joseph-Pietras D, Morjani H, *et al.* Resveratrol induces cell-cycle disruption and apoptosis in chemoresistant B16 melanoma. *J Cell Biochem* 2010; 110: 893-902.
- [56] Bhattacharya S, Darjatmoko SR, Polans AS. Resveratrol modulates the malignant properties of cutaneous melanoma through changes in the activation and attenuation of the antiapoptotic protooncogenic protein Akt/PKB. *Melanoma Res* 2011; 21: 180-7.
- [57] Osmond GW, Augustine CK, Zipfel PA, Padussis J, *et al.* Enhancing melanoma treatment with resveratrol. *J Surg Res* 2012; 172: 109-15.
- [58] Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM, Kassem M, *et al.* Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. *Cancer Res* 2005; 65: 9943-52.
- [59] Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S, Bueso-Ramos C, *et al.* Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT-3 and nuclear factor-kappaB-regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. *Blood* 2007; 109: 2293-302.
- [60] Jiang H, Shang X, Wu H, Huang G, *et al.* Combination treatment with resveratrol and sulforaphane induces apoptosis in human U251 glioma cells. *Neurochem Res* 2010; 35: 152-61.
- [61] Sun Z, Li H, Shu XH, Shi H, *et al.* Distinct sulfonation activities in resveratrol-sensitive and resveratrol-insensitive human glioblastoma cells. *FEBS J* 2012; 279: 2381-92.
- [62] Leone S, Fiore M, Lauro MG, Pino S, *et al.* Resveratrol and X rays affect gap junction intercellular communications in human glioblastoma cells. *Mol Carcinog* 2008; 47: 587-98.
- [63] Castino R, Pucer A, Veneroni R, Morani F, *et al.* Resveratrol reduces the invasive growth and promotes the acquisition of a long-lasting differentiated phenotype in human glioblastoma cells. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 4264-72.
- [64] Filippi-Chiela EC, Villodre ES, Zamin LL, Lenz G. Autophagy interplay with apoptosis and cell cycle regulation in the growth inhibiting effect of resveratrol in glioma cells. *PLoS One* 2011; 6: e20849.

## Anexo 1

- [65] Lin CJ, Lee CC, Shih YL, Lin TY, *et al.* Resveratrol enhances the therapeutic effect of temozolomide against malignant glioma *in vitro* and *in vivo* by inhibiting autophagy. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 377-91.
- [66] Bai Y, Mao QQ, Qin J, Zheng XY, *et al.* Resveratrol induces apoptosis and cell cycle arrest of human T24 bladder cancer cells *in vitro* and inhibits tumor growth *in vivo*. *Cancer Sci* 2010; 101: 488-93.
- [67] Lin X, Wu G, Huo WQ, Zhang Y, *et al.* Resveratrol induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction in bladder carcinoma cells. *Int J Urol* 2012; 19: 757-64.
- [68] Stocco B, Toledo K, Salvador M, Paulo M, *et al.* Dose-dependent effect of resveratrol on bladder cancer cells: chemoprevention and oxidative stress. *Maturitas* 2012; 72: 72-8.
- [69] Shu XH, Li H, Sun Z, Wu ML, *et al.* Identification of metabolic pattern and bioactive form of resveratrol in human medulloblastoma cells. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 1516-25.
- [70] Wen S, Li H, Wu ML, Fan SH, *et al.* Inhibition of NF- $\kappa$ B signaling commits resveratrol-treated medulloblastoma cells to apoptosis without neuronal differentiation. *J Neurooncol* 2011; 104: 169-77.
- [71] Zhang P, Li H, Wu ML, Chen XY, *et al.* c-Myc downregulation: a critical molecular event in resveratrol-induced cell cycle arrest and apoptosis of human medulloblastoma cells. *J Neurooncol* 2006; 80: 123-31.
- [72] Sun X, Zhang Y, Wang J, Wei L, *et al.* Beta-arrestin 2 modulates resveratrol-induced apoptosis and regulation of Akt/GSK3 $\beta$  pathways. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1800: 912-18.
- [73] Wang Z, Li W, Meng X, Jia B. Resveratrol induces gastric cancer cell apoptosis via reactive oxygen species, but independent of sirtuin1. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012; 39: 227-32.
- [74] Aquilano K, Baldelli S, Rotilio G, Ciriolo MR. trans-Resveratrol inhibits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced adenocarcinoma gastric cells proliferation via inactivation of MEK1/2-ERK1/2-c-Jun signalling axis. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 337-47.
- [75] Signorelli P, Munoz-Olaya JM, Gagliostro V, Casas J, *et al.* Dihydroceramide intracellular increase in response to resveratrol treatment mediates autophagy in gastric cancer cells. *Cancer Lett* 2009; 282: 238-43.

## Anexo 1

- [76] Truong M, Cook MR, Pinchot SN, Kunnimalaiyaan M, *et al.* Resveratrol induces Notch2-mediated apoptosis and suppression of neuroendocrine markers in medullary thyroid cancer. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1506-11.
- [77] Shih A, Davis FB, Lin HY, Davis PJ. Resveratrol induces apoptosis in thyroid cancer cell lines via a MAPK- and p53-dependent mechanism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1223-32.
- [78] Li Y, Bäckesjö CM, Haldosén LA, Lindgren U. Resveratrol inhibits proliferation and promotes apoptosis of osteosarcoma cells. *Eur J Pharmacol* 2009; 609: 13-8.
- [79] Alkhalaf M, Jaffal S. Potent antiproliferative effects of resveratrol on human osteosarcoma SJSA1 cells: Novel cellular mechanisms involving the ERKs/p53 cascade. *Free Radic Biol Med* 2006; 41: 318-25.
- [80] Sareen D, van Ginkel PR, Takach JC, Mohiuddin A, *et al.* Mitochondria as the primary target of resveratrol-induced apoptosis in human retinoblastoma cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 3708-16.



## Anexo 1

**Tabla Suplementaria 1.2.** Efectos neuroprotectores del RES en modelos in vitro.

<b>Efecto</b>	<b>Modelo Celular</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Efectos y Mecanismos</b>	<b>Referencia</b>
Antiinflamatorio	Cultivo primario de neuronas corticales de rata estimuladas con LPS (100 ng/mL)	Pretratamiento 15-60 $\mu$ M / 30 min	$\downarrow$ TNF- $\alpha$ , iNOS, IL-1 $\beta$ , NO	1
	Células murinas microgliales BV2 estimuladas con LPS (1 $\mu$ g/mL)	Pretratamiento 25-100 $\mu$ M / 1h	$\downarrow$ TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NO, PGE2; $\downarrow$ Akt/mTOR, NF- $\kappa$ B, CREB, MAPKs	2
	Cocultivo de células neuronales PC12 y microglia N9 estimuladas con LPS (1 $\mu$ g/mL)	Pretratamiento 0.1 $\mu$ M / 3h	$\downarrow$ TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ ; $\uparrow$ Supervivencia celular	3
	Cultivo celular primario microglial estimulado con LPS (10 ng/mL)	1-50 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ PGE2, 8iso-PGF2; $\downarrow$ mPGES-1	4
Antiamiloidogénico	Células de astroglioma C6 de rata tratadas con $\beta$ -amiloide	Pretratamiento 2.5-20 $\mu$ M / 40 min	$\downarrow$ iNOS, NO; $\downarrow$ PGE2, COX-2 ; $\downarrow$ NF- $\kappa$ B	5
	Células SK-N-BE	7.5 $\mu$ M / 6-43h	$\downarrow$ ROS; $\downarrow$ Toxicidad celular $\alpha$ -sin y A $\beta$ ; $\uparrow$ SIRT1	6
	Células HEK293 y N2a establemente transfectadas con APP695 humanas y cultivos primarios neuronales APP/PS1 de ratones transgénicos	10-40 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ A $\beta$ -40, A $\beta$ -42; $\uparrow$ AMPK, CREB, ATF-1, Fosforilación de ACC; $\uparrow$ c-FOS; AMPK/CREB/c-FOS	7
	Cultivos primarios de neuronas hipocampales	Pretratamiento, cotratamiento y post-tratamiento 5-40 $\mu$ M / 2h	$\uparrow$ Supervivencia celular, PKC	8
	APP665-HEk293; APP695-N2a	10-40 $\mu$ M / 26h	$\downarrow$ A $\beta$ intracelular, Activación de proteosomas	9
Antioxidante	Cultivo primario astrocitos de rata	Pretratamiento 0.1-100 $\mu$ M / 1h	$\downarrow$ Daño en el ADN; $\uparrow$ Supervivencia celular	10
	Células murinas HT22 de neuronas hipocampales tratadas con glutamato 4 mM	1-20 $\mu$ M / 24h	$\uparrow$ Supervivencia celular; $\downarrow$ ROS; $\uparrow$ SOD2 ; PI3K/Akt y GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenina	11
	Cultivo primario neuronal tratado con glutamato 30 $\mu$ M	25 $\mu$ M 24h / 6-8h	$\uparrow$ HO-1	12
	Cultivo primario neuronas tratadas con 30 $\mu$ M MPP+	10-100 $\mu$ M / 48h	$\uparrow$ Supervivencia celular; $\downarrow$ ROS; $\downarrow$ Daño en el ADN	13
	Cultivo primario de neuronas corticales	5-50 $\mu$ M / 6h	$\uparrow$ Supervivencia celular; inducción de HO-1	14
	Cultivos primarios de neuronas hipocampales de rata co-tratadas con SNP (100 $\mu$ M)	5-25 $\mu$ M / 2h	$\uparrow$ Supervivencia celular; $\downarrow$ ROS	15

## Anexo 1

Antiapoptótico	Línea celular human de neuroblastoma (SH-SY5Y y SK-N-SH) tratadas con proteína priónica (PrP)	Pretratamiento 1-2 $\mu\text{M}$ / 12h	↓Translocación de Bax; ↓Liberación de Citocromo C; Regulación de autofagia	16
	Células VSC4.1 con hSOD1G93A	0.5-20 $\mu\text{M}$ / 24h	↑Supervivencia celular; ↑ATP intercelular, SIRT1/PGC1- $\alpha$	17
	Cultivo de neuronas dopaminérgicas mesencefálicas tratadas con metanfetamina	Pretratamiento 10 $\mu\text{M}$ / 1h	↓Caspasa 3; ↓Fragmentación de ADN	18
	Células SH-SY5Y tratadas con rotenona/ $\alpha$ -sin de células PC12	12-50 $\mu\text{M}$ / 24-72h	↑Supervivencia celular; ↓Fragmentación de ADN; ↓Caspasa 3, PARP, AMPK/SIRT1/Autofagia	19
	Células PC12 tratadas con MPP+	Pretratamiento 0.1 $\mu\text{M}$ / 3h	↓Bax/Bcl-2, AIF y Liberación de Citocromo C	20
	Cultivo primario de neuronas de ratones SAMP8 & SAMR1	50 $\mu\text{M}$ / 2h	↑Supervivencia celular; ↓acetilp53, SIRT1	21
	Células PC12 con privación de oxígeno-glucosa	Pretratamiento, cotratamiento y post-tratamiento 5-25 $\mu\text{M}$ / 6-24h	↓ROS; ↑GSH; ↓HIF- $\alpha$ ; ↓Caspasa 3, Bax, Bcl-2	22
	Células SH-SY5Y de neuroblastoma humano tratadas con placitaxel 1 $\mu\text{M}$	1-100 $\mu\text{M}$ / 24h	↑Supervivencia celular; ↓caspasa 7 y Activación de PPAR	23
	Cultivos de neuronas hipocampales organotípicas con privación de oxígeno-glucosa	10-50 $\mu\text{M}$ / 24h	↑Supervivencia celular; PI3K	24
Células neuronales del ganglio dorsal (DRG)	10 $\mu\text{M}$ / 2-72h	↑Fosforilación de AMPK; ↑Fosforilación de ACC; ↑Diferenciación; ↑Biogénesis mitocondrial	25	

8-iso-PGF2 $\alpha$ , 8-iso-prostaglandina-F2 $\alpha$ ; ACC, acetyl-CoA carboxilasa; AIF, factor inductor de apoptosis; Akt, proteína quinasa B;  $\alpha$ -sin, alfa-sinucleína; AMPK, proteína quinasa activada por adenosina monofosfato; A $\beta$ , péptido beta amiloide; ATF1, factor de transcripción activador 1; Bax, proteína X asociada al Bcl2; Bcl-2, Linfoma de células B 2; Casp3, caspasa 3; COX-2, ciclooxigenasa 2; CREB, proteína que se liga al elemento de respuesta al cAMP; GPx, glutathione peroxidasa; GSH, glutathione; GSK-3 $\beta$ , quinasa sintasa de glicógeno 3 beta; HIF- $\alpha$ , factor inducible de hipoxia; HO-1, heme oxigenasa-1; IL-1 $\alpha$ , interleuquina 1-alfa; IL-1 $\beta$ , interleuquina 1-beta; MAPK, proteína quinasa activada por mitógenos; mPGES-1, sintasa PGE asociada a membrana; mTOR, diana de la rapamicina en los mamíferos; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; NF- $\kappa$ B, factor nuclear kappa B; NO, óxido nítrico ; PGC-1 $\alpha$ , coactivador 1 alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PGE<sub>2</sub>, prostaglandina E<sub>2</sub>; PI3K, fosfoinositol 3 quinasa; PKC, proteína quinasa C; PPAR, receptor activado por proliferadores de peroxisomas; ROS, especies reactivas de oxígeno; SIRT1, sirtuina 1; SOD2, superóxido dismutasa 2; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; XO, xantina oxidasa. El efecto se indica por ↓: reducción; ↑: inducción; p-: estado de fosforilación.

**Referencias para la Tabla Suplementaria 1.2.**

- [1] Zhang F, Wang H, Wu Q, Lu Y, *et al.* Resveratrol Protects Cortical Neurons against Microglia-mediated Neuroinflammation. *Phytother Res* 2012; doi: 10.1002/ptr.4734.
- [2] Zhong LM, Zong Y, Sun L, Guo JZ, *et al.* Resveratrol inhibits inflammatory responses via the mammalian target of rapamycin signaling pathway in cultured LPS-stimulated microglial cells. *PLoS One* 2012; 7: e32195.
- [3] Bureau G, Longpré F, Martinoli MG. Resveratrol and quercetin, two natural polyphenols, reduce apoptotic neuronal cell death induced by neuroinflammation. *J Neurosci Res* 2008; 86: 403-10.
- [4] Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Gräf S, Bhatia HS, *et al.* Resveratrol potently reduces prostaglandin E2 production and free radical formation in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *J Neuroinflammation* 2007; 4: 25.
- [5] Kim YA, Lim SY, Rhee SH, Park KY, *et al.* Resveratrol inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression in beta-amyloid-treated C6 glioma cells. *Int J Mol Med* 2006; 17: 1069-75.
- [6] Albani D, Polito L, Batelli S, De Mauro S, *et al.* The SIRT1 activator resveratrol protects SK-N-BE cells from oxidative stress and against toxicity caused by alpha-synuclein or amyloid-beta (1-42) peptide. *J Neurochem* 2009; 110: 1445-56.
- [7] Vingtdoux V, Giliberto L, Zhao H, Chandakkar P, *et al.* AMP-activated protein kinase signaling activation by resveratrol modulates amyloid-beta peptide metabolism. *J Biol Chem* 2010; 285: 9100-13.
- [8] Han YS, Zheng WH, Bastianetto S, Chabot JG, *et al.* Neuroprotective effects of resveratrol against beta-amyloid-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons: involvement of protein kinase C. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 997-1005.
- [9] Marambaud P, Zhao H, Davies P. Resveratrol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *J Biol Chem* 2005; 280: 37377-82.
- [10] Gonthier B, Allibe N, Cottet-Rousselle C, Lamarche F, *et al.* Specific Conditions for Resveratrol Neuroprotection against Ethanol-Induced Toxicity. *J Toxicol* 2012; 2012: 973134.
- [11] Fukui M, Choi HJ, Zhu BT. Mechanism for the protective effect of resveratrol against oxidative stress-induced neuronal death. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 800-13.

## Anexo 1

- [12] Sakata Y, Zhuang H, Kwansa H, Koehler RC, *et al.* Resveratrol protects against experimental stroke: putative neuroprotective role of heme oxygenase 1. *Exp Neurol* 2010; 224: 325-9.
- [13] Okawara M, Katsuki H, Kurimoto E, Shibata H, *et al.* Resveratrol protects dopaminergic neurons in midbrain slice culture from multiple insults. *Biochem Pharmacol* 2007; 73: 550-60.
- [14] Zhuang H, Kim YS, Koehler RC, Doré S. Potential mechanism by which resveratrol, a red wine constituent, protects neurons. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 993: 276-86.
- [15] Bastianetto S, Zheng WH, Quirion R. Neuroprotective abilities of resveratrol and other red wine constituents against nitric oxide-related toxicity in cultured hippocampal neurons. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 711-20.
- [16] Jeong JK, Moon MH, Bae BC, Lee YJ, *et al.* Autophagy induced by resveratrol prevents human prion protein-mediated neurotoxicity. *Neurosci Res* 2012; 73: 99-105.
- [17] Wang J, Zhang Y, Tang L, Zhang N, *et al.* Protective effects of resveratrol through the up-regulation of SIRT1 expression in the mutant hSOD1-G93A-bearing motor neuron-like cell culture model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett* 2011; 503: 250-5.
- [18] Kanthasamy K, Gordon R, Jin H, Anantharam V, *et al.* Neuroprotective effect of resveratrol against methamphetamine-induced dopaminergic apoptotic cell death in a cell culture model of neurotoxicity. *Curr Neuropharmacol* 2011; 9: 49-53.
- [19] Wu Y, Li X, Zhu JX, Xie W, *et al.* Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. *Neurosignals* 2011; 19: 163-74.
- [20] Bournival J, Quessy P, Martinoli MG. Protective effects of resveratrol and quercetin against MPP+-induced oxidative stress act by modulating markers of apoptotic death in dopaminergic neurons. *Cell Mol Neurobiol* 2009; 29: 1169-80.
- [21] Cristòfol R, Porquet D, Corpas R, Coto-Montes A, *et al.* Neurons from senescence-accelerated SAMP8 mice are protected against frailty by the sirtuin 1 promoting agents melatonin and resveratrol. *J Pineal Res* 2012; 52: 271-81.
- [22] Agrawal M, Kumar V, Kashyap MP, Khanna VK, *et al.* Ischemic insult induced apoptotic changes in PC12 cells: protection by trans-resveratrol. *Eur J Pharmacol* 2011; 666: 5-11.
- [23] Nicolini G, Rigolio R, Miloso M, Bertelli AA, *et al.* Anti-apoptotic effect of trans-resveratrol on paclitaxel-induced apoptosis in the human neuroblastoma SH-SY5Y cell line. *Neurosci Lett* 2001; 302: 41-4.

## Anexo 1

- [24] Zamin LL, Dillenburg-Pilla P, Argenta-Comiran R, Horn AP, *et al.* Protective effect of resveratrol against oxygen-glucose deprivation in organotypic hippocampal slice cultures: Involvement of PI3-K pathway. *Neurobiol Dis* 2006; 24: 170-82.
- [25] Dasgupta B, Milbrandt J. Resveratrol stimulates AMP kinase activity in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 7217-22.

**Anexo 1****Tabla Suplementaria 1.3.** Efectos del RES en las células humanas asociadas al entorno vascular.

<b>Efecto</b>	<b>Mecanismos</b>	<b>Línea Celular</b>	<b>Dosis testada</b>	<b>Referencia</b>
Mejora en la función endotelial	↑eNOS	HUVEC	50 nM - 100 μM	1-4
		HCAEC	1-10 μM	5
	↑Liberación de NO	EA.hy 926	1-100 μM	1
		HUVEC	50 nM – 60 μM	6-9
Antioxidante	↑SOD	HUVEC	1-100 μM	10
		HCAEC	3-30 μM	11
		EA.hy 926	1-100 μM	10, 12
	↑GPx1	HUVEC	1-100 μM	10
		EA.hy 926	1-100 μM	10, 12
	↑HO-1	HCAEC	0.1-50 μM	13, 14
		HASMC	1-40 μM	15
	↑NQO-1; ↑GCLC; ↑Nrf-2	HCAEC	0.1-50 μM	13
	↑Catalasa; ↑GCH1	EA.hy 926	100 μM	12
	↓ O <sub>2</sub> <sup>-</sup> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> mitocondrial; ↑GSH	HCAEC	3-30 μM	11
	↑Trx-1; ↑VEGF	HCAEC	1-50 μM	14
	↑Biogénesis mitocondrial; ↑PGC-1α; ↑Nrf-1;	HCAEC	1-10 μM	5
	↑Tfam; ↑SIRT1			
	↑NQO-1; ↑NQO-2; ↑p53; ↑HSP27	HASMC	10-50 μM	17
	↓ROS	HCAEC	10-100 μM	18, 19
	↓NOX actividad	HUVEC	5-10 μM	20
	↓NOX4-mRNA	HUVEC & EA.hy 926	1-100 μM	2
Antiinflamatorio	↓IL-6; ↓TNFα; ↓iNOS	HCAEC	10 μM	21
	↓IL-6; ↓IL-8	Preadipocitos y adipocitos de SGBS	10-100 μM	22
	↓ICAM-1;	HUVEC	0.1- 10 μM	23, 24
	↓VCAM	HSVEC	0.1&1 μM	23
		HCAEC	0.1-10 μM	18
		HUVEC	1-10 μM	25
	↓ Adhesión de monocitos a las CE	HCAEC	0.1-10 μM	21
		HUVEC	1-20 μM	26
	↓Migración de CE	HUVEC	1-20 μM	26
	↓MCP-1	THP-1	1-20 μM	26
	↓NF-κB	HUVEC	1-10 μM	25
		HCAEC	0.1-10 μM	18, 21
		HASMC	10-50 μM	17
		THP-1& U937	30 μM	27
	↓MMP-9; ↓COX-2	HBMEC	5-100 μM	16
↓PGE <sub>2</sub> ; ↓LB <sub>4</sub> ; ↓MMP	Condrocitos	1-10 μM	28	
Modulación	↓Proliferación de preadipocitos;	Preadipocitos y	10-100 μM	22

## ***Anexo 1***

lipídica	↓Diferenciación adipogénica; ↓ Lipogénesis de novo; ↓Expresión génica lipogénica	adipocitos de SGBS		
Interacción plaquetaria	↓Agregación	Lavado plaquetario	0.05-0.25 $\mu$ M	29
	↑Apoptosis plaquetaria		5-25 $\mu$ M	30

COX, ciclooxigenasa; EA.hy 926, línea celular humana de la vena umbilical; CE, células endoteliales; eNOS, sintasa óxido nítrico endotelial; GCH1, GTP ciclohidrolasa 1; GCLC, subunidad catalítica de la ligasa glutamato-cisteína; GPx, glutatona peroxidasa; GSH, glutatona; HASMC, células humanas del músculo liso de aorta; HBMEC, células endoteliales humanas microvasculares del cerebro, HCAEC, células humanas endoteliales de la arteria coronaria; HSVEC, células humanas endoteliales de la vena safena; HUVEC, células humanas endoteliales de la vena umbilical; HO-1, heme oxigenasa-1; HSP, proteína de choque térmico; ICAM-1, molécula de adhesión intercelular 1; IL, interleuquina; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; LB<sub>4</sub>, leucotrieno B<sub>4</sub>; MCP, proteína quimiotáctica de monocitos; MMP, metaloproteínasa de la matriz; MPO, mieloperoxidasa; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; NF- $\kappa$ B, factor nuclear kappa B; NO, óxido nítrico; NOX, NADPH oxidasa; NQO, NADPH: quinona oxidoreductasa; Nrf, factor nuclear relacionado con E<sub>2</sub>; PGC-1 $\alpha$ , co-activador 1 alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PGE<sub>2</sub>, prostaglandina E<sub>2</sub>; ROS, especies reactivas de oxígeno; SGBS, síndrome humano de Simpson-Golabi-Behmel; SIRT1, sirtuína 1; SOD, superóxido dismutasa; Tfam, factor de transcripción mitocondrial A; THP-1, línea celular humana de leucemia monocítica aguda; TNF, factor de necrosis tumoral; Trx, tioredoxina; U937, línea celular humana de macrófagos; VCAM-1, proteína de adhesión de las células vasculares 1; VEGF, factor de crecimiento del endotelio vascular; ↓, reducción; ↑, inducción.

## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.3.

- [1] Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, *et al.* Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002; 106: 1652-8.
- [2] Arunachalam G, Yao H, Sundar IK, Caito S, *et al.* SIRT1 regulates oxidant- and cigarette smoke-induced eNOS acetylation in endothelial cells: role of resveratrol. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 66-72.
- [3] Klinge CM, Blankenship KA, Risinger KE, Bhatnagar S, *et al.* Resveratrol and estradiol rapidly activate MAPK signaling through estrogen receptors alpha and beta in endothelial cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 7460-8.
- [4] Xu Q, Hao X, Yang Q, Si L. Resveratrol prevents hyperglycemia-induced endothelial dysfunction via activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388: 389-94.
- [5] Csiszar A, Labinskyy N, Pinto JT, Ballabh P, *et al.* Resveratrol induces mitochondrial biogenesis in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: H13-20.
- [6] Takahashi S, Nakashima Y. Repeated and long-term treatment with physiological concentrations of resveratrol promotes NO production in vascular endothelial cells. *Br J Nutr* 2012; 107: 774-80.
- [7] Yang J, Wang N, Li J, Zhang J, *et al.* Effects of resveratrol on NO secretion stimulated by insulin and its dependence on SIRT1 in high glucose cultured endothelial cells. *Endocrine* 2010; 37: 365-72.
- [8] Klinge CM, Wickramasinghe NS, Ivanova MM, Dougherty SM. Resveratrol stimulates nitric oxide production by increasing estrogen receptor alpha-Src-caveolin-1 interaction and phosphorylation in human umbilical vein endothelial cells. *FASEB J* 2008; 22: 2185-97.
- [9] Elíes J, Cuiñas A, García-Morales V, Orallo F, *et al.* Trans-resveratrol simultaneously increases cytoplasmic Ca(2+) levels and nitric oxide release in human endothelial cells. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 1237-48.
- [10] Spanier G, Xu H, Xia N, Tobias S, *et al.* Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). *J Physiol Pharmacol* 2009; 60 (Suppl. 4): 111-6.



## Anexo 1

- [11] Ungvari Z, Labinskyy N, Mukhopadhyay P, Pinto JT, *et al.* Resveratrol attenuates mitochondrial oxidative stress in coronary arterial endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: H1876-81.
- [12] Xia N, Daiber A, Habermeier A, Closs EI, *et al.* Resveratrol reverses endothelial nitric-oxide synthase uncoupling in apolipoprotein E knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 335: 149-54.
- [13] Ungvari Z, Bagi Z, Feher A, Recchia FA, *et al.* Resveratrol confers endothelial protection via activation of the antioxidant transcription factor Nrf2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299: H18-24.
- [14] Kaga S, Zhan L, Matsumoto M, Maulik N. Resveratrol enhances neovascularization in the infarcted rat myocardium through the induction of thioredoxin-1, heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 39: 813-22.
- [15] Juan SH, Cheng TH, Lin HC, Chu YL, *et al.* Mechanism of concentration-dependent induction of heme oxygenase-1 by resveratrol in human aortic smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 41-8.
- [16] Annabi B, Lord-Dufour S, Vézina A, Béliveau R. Resveratrol Targeting of Carcinogen-Induced Brain Endothelial Cell Inflammation Biomarkers MMP-9 and COX-2 is Sirt1-Independent. *Drug Target Insights* 2012; 6: 1-11.
- [17] Wang Z, Chen Y, Labinskyy N, Hsieh TC, *et al.* Regulation of proliferation and gene expression in cultured human aortic smooth muscle cells by resveratrol and standardized grape extracts. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 367-76.
- [18] Csiszar A, Labinskyy N, Podlutzky A, Kaminski PM, *et al.* Vasoprotective effects of resveratrol and SIRT1: attenuation of cigarette smoke-induced oxidative stress and proinflammatory phenotypic alterations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H2721-35.
- [19] Sayin O, Arslan N, Altun ZS, Akdogan G. *In vitro* effect of resveratrol against oxidative injury of human coronary artery endothelial cells. *Turk J Med Sci* 2011; 41: 211-8.
- [20] Chow SE, Hshu YC, Wang JS, Chen JK. Resveratrol attenuates oxLDLstimulated NADPH oxidase activity and protects endothelial cells from oxidative functional damages. *J Appl Physiol* 2007; 102: 1520-7.
- [21] Csiszar K, Smith N, Labinskyy Z, Orosz A, *et al.* Resveratrol attenuates TNF-alpha-induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF-kappaB inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291:H1694-9.

## Anexo 1

- [22] Fischer-Posovszky P, Kukulius V, Tews D, Unterkircher T, *et al.* Resveratrol regulates human adipocyte number and function in a Sirt1-dependent manner. *Am J Clin Nutr* 2010; 92: 5-15.
- [23] Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, *et al.* Activity *in vitro* of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1208-14.
- [24] Kim SW, Kim CE, Kim MH. Flavonoids inhibit high glucose-induced up-regulation of ICAM-1 via the p38 MAPK pathway in human vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 415: 602-7.
- [25] Moon SO, Kim W, Sung MJ, Lee S, *et al.* Resveratrol suppresses tumor necrosis factor-alpha-induced fractalkine expression in endothelial cells. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 112-9.
- [26] Cicha I, Regler M, Urschel K, Goppelt-Struebe M, *et al.* Resveratrol inhibits monocytic cell chemotaxis to MCP-1 and prevents spontaneous endothelial cell migration through Rho kinase-dependent mechanism. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18: 1031-42.
- [27] Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr. Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the I $\kappa$ B kinase. *Cancer Res* 2000; 60: 3477-83.
- [28] Dave M, Attur M, Palmer G, Al-Mussawir HE, *et al.* The antioxidant resveratrol protects against chondrocyte apoptosis via effects on mitochondrial polarization and ATP production. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2786-97.
- [29] Shen MY, Hsiao G, Liu CL, Fong TH, *et al.* Inhibitory mechanisms of resveratrol in platelet activation: pivotal roles of p38 MAPK and NO/cyclic GMP. *Br J Haematol* 2007; 139: 475-85.
- [30] Lin KH, Hsiao G, Shih CM, Chou DS, *et al.* Mechanisms of resveratrol induced platelet apoptosis. *Cardiovasc Res* 2009; 83: 575-85.

## Anexo 1

**Tabla Suplementaria 1.4.** Efectos anti-envejecimiento del RES en modelos *in vitro*.

Modelo Celular	Tratamiento	Efectos y Mecanismos	Referencia
Cultivo fibroblastos MRC5 humanos presenescentes	5 $\mu$ M / hasta senescencia (44-55 PDL)	$\downarrow$ desarrollo de SASP; $\downarrow$ IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, GRO- $\alpha$ , VEGF; $\uparrow$ colágeno del tipo I; $\uparrow$ capacidad de adhesión	1
Células de mioblasto C2C12 y células HeLa	50 $\mu$ M / 4 días	$\uparrow$ cAMP vía Epac1; $\uparrow$ NAD <sup>+</sup> niveles; $\uparrow$ tasa de consumo de oxígeno ; $\uparrow$ oxidación lipídica; $\uparrow$ biogénesis mitocondrial; inhibición de PDE; Epac1-SIRT1; PLC-Ryr2	2
BAECs	0.01-1 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ senescencia de aorta (SA- $\beta$ -gal); $\downarrow$ ROS; $\downarrow$ NADPH oxidasa p47phox; $\uparrow$ SIRT1; SIRT1/NADPH oxidasa	3
Primario vascular músculo liso células (VSMCs) de Macaca mulatta 13 y 21 años de edad	1 $\mu$ M / 48h	$\downarrow$ IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ; $\downarrow$ IL-8, MCP-1, VEGF; $\downarrow$ IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12/23; $\downarrow$ MIP- $\beta$ , sCD40L; $\downarrow$ generación de O <sub>2</sub> <sup>-</sup> mitocondrial; $\downarrow$ activación de NF- $\kappa$ B; $\uparrow$ Nrf-2	4
Células endoteliales jóvenes y senescentes	10 $\mu$ M / 1h	$\downarrow$ Akt; $\downarrow$ S6k1; $\downarrow$ SOD; $\uparrow$ NO; mTOR/S6K1	5
Fibroblastos de piel humana deficientes en VLCAD y CPT2	10-125 $\mu$ M / 48h	$\uparrow$ tasa de oxidación de palmitato; $\uparrow$ flujo de FAO; $\uparrow$ VLCAD, expresión de CPT2; $\uparrow$ SIRT1; $\uparrow$ PGC1- $\alpha$	6
Células endoteliales de vasos coronarios de pacientes sometidos a cirugía en la arteria coronaria y ratas SD	10-100 $\mu$ M / 48h	$\uparrow$ expresión y actividad de SIRT1; $\downarrow$ ROS	7
Células SaOS2 & RGC incubadas en niveles de glucosa reducidos	20-160 $\mu$ M / 48h	$\downarrow$ expresión de SIRT1; $\uparrow$ TXNIP (20-40 $\mu$ M); $\downarrow$ TXNIP (80-160 $\mu$ M)	8
Células embrionarias de la retina	5-20 $\mu$ M / 48h	$\uparrow$ mRNA y actividad de SIRT1; $\uparrow$ supervivencia celular; $\downarrow$ ROS	9
Fibroblastos WI-38 humanos / células HT-1080 / células epiteliales de pigmento retinal	3-200 $\mu$ M / 72 h	$\downarrow$ morfología de senescencia; $\uparrow$ proliferación; $\downarrow$ fosforilación de S6; mTOR	10
Fibroblastos diploides mortales de la piel humana	0.2-1 $\mu$ M / 24h	$\downarrow$ mRNA de INK4a; $\downarrow$ mRNA $\alpha$ -macroglobulina; $\downarrow$ UBE2D3	11

## Anexo 1

Akt, proteína quinasa B; cAMP, adenosina monofosfato cíclico; CPT2, carnitina palmitoil transferasa 2; Epac1, proteína intercambiadora activada por AMP cíclico; FAO, oxidación  $\beta$  ácidos grasos mitocondriales; IFN- $\gamma$ , interferón gamma; IL, interleuquina; MCP-1, proteína quimiotáctica de monocitos-1; MIP-1 $\beta$ , proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ; NF- $\kappa$ B, factor nuclear kappa B; NO, óxido nítrico ; Nrf-2, factor 2 asociado al factor nuclear eritroide 2; PGC-1 $\beta$ , co-activador 1 beta del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PLC; fosfolipasa C; ROS, especies reactivas de oxígeno; Ryr2, receptor de rianodina 2; S6, proteína ribosomal 6; S6k1, proteína quinasa ribosomal S6 beta 1; SA- $\beta$ -Gal, beta-galactosidasa asociada a senescencia; SASP, fenotipo secretorio asociado a senescencia; sCD40L, ligando CD40 soluble; SIRT1, sirtuína 1; SOD, superóxido dismutasa; TXNIP, proteína que interactúa con la tiorredoxina; TNF- $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; UBE2D3, enzima conjugadora de ubiquitina E2D 3; VEGF, factor de crecimiento del endotelio vascular; VLCAD, Acil-CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena muy larga. El efecto se indica por  $\downarrow$ : reducción;  $\uparrow$ : inducción; p-: estado de fosforilación.

## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.4.

- [1] Pitozzi V, Mocali A, Laurenzana A, Giannoni E, *et al.* Chronic Resveratrol Treatment Ameliorates Cell Adhesion and Mitigates the Inflammatory Phenotype in Senescent Human Fibroblasts. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012; doi: 10.1093/gerona/gls183.
- [2] Park SJ, Ahmad F, Philp A, Baar K, *et al.* Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell* 2012; 148: 421-33.
- [3] Tang Y, Xu J, Qu W, Peng X, *et al.* Resveratrol reduces vascular cell senescence through attenuation of oxidative stress by SIRT1/NADPH oxidase-dependent mechanisms. *J Nutr Biochem* 2012; doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.08.008.
- [4] Csiszar A, Sosnowska D, Wang M, Lakatta EG, *et al.* Age-associated proinflammatory secretory phenotype in vascular smooth muscle cells from the non-human primate *Macaca mulatta*: reversal by resveratrol treatment. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012; 67:811-20.
- [5] Rajapakse AG, Yepuri G, Carvas JM, Stein S, *et al.* Hyperactive S6K1 mediates oxidative stress and endothelial dysfunction in aging: inhibition by resveratrol. *PLoS One* 2011; 6: e19237.
- [6] Bastin J, Lopes-Costa A, Djouadi F. Exposure to resveratrol triggers pharmacological correction of fatty acid utilization in human fatty acid oxidation-deficient fibroblasts. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 2048-57.
- [7] Kao CL, Chen LK, Chang YL, Yung MC, *et al.* Resveratrol protects human endothelium from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress and senescence via Sirt1 activation. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17: 970-9.
- [8] Mousa SA, Gallati C, Simone T, Dier E, *et al.* Dual targeting of the antagonistic pathways mediated by Sirt1 and TXNIP as a putative approach to enhance the efficacy of anti-aging interventions. *Aging (Albany NY)* 2009; 1: 412-24.
- [9] Peng CH, Chang YL, Kao CL, Tseng LM, *et al.* Sirt1-a sensor for monitoring self-renewal and aging process in retinal stem cells. *Sensors (Basel)* 2010; 10: 6172-94.
- [10] Demidenko ZN, Blagosklonny MV. At concentrations that inhibit mTOR, resveratrol suppresses cellular senescence. *Cell Cycle* 2009; 8: 1901-4.
- [11] Stefani M, Markus MA, Lin RC, Pinesse M, *et al.* The effect of resveratrol on a cell model of human aging. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1114: 407-18.

**Anexo 1****Tabla Suplementaria 1.5.** Efectos quimiopreventivos del RES en el cáncer y mecanismos relacionados en animales modelo.

<b>Modelo de Cáncer</b>	<b>Modelo Animal</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Efectos y Mecanismos</b>	<b>Referencia</b>
Colon	Ratones Apc <sup>Min</sup> (machos)	45 µg/kg pc (po) / 60 días	↓carcinogénesis de colon inducida por BaP en ratones Apc <sup>Min</sup> ; ↓número de adenomas	1
	Ratones C57BL/6	48 mg/kg pc/día (dieta) / 62 días	↓incidencias de cáncer	2
	Ratones C57BL/6J ApcMin/+(machos)	60, 240 mg/kg pc/día (dieta) / 3 semanas	↓adenomas; ↓ niveles de PGE-2 en la mucosa intestinal; ↓actividad de la COX	3
	Ratas Wistar (machos)	8 mg/kg/día (po) / 15, 30 semanas	↓carcinogénesis de colon inducida por DMH; ↓número de ACF	4
	Ratones CF-1	2.4 mg/kg pc/día (dieta) / 5 semanas	↓número de ACF/ratón	5
	Ratas F344 (machos)	200 µg/kg pc/día (en agua) / 100 días	↓carcinogénesis de colon inducida por AOM; ↓número y multiplicidad de ACF; ↑Bax; ↓p21	6
	Próstata	Ratones PTEN-KO (machos)	50 mg/kg (po) / 7 semanas (3 veces/semana)	↓incidencias de cáncer
Ratas SV-40 Tag (machos)		25 mg/kg/día (dieta) / 30 semanas	↓incidencias; ↓proliferación celular; ↓IGF-1	8
Ratas TRAP (machos heterocigotos)		50, 100, 200 µg/mL/día (en agua) / 7 semanas	↓desarrollo del cáncer; ↑apoptosis; ↓AR	9
Ratones BALB/cAnNCr-nu/nu (machos atímicos desnudos)		50, 100 mg/kg (dieta) / 2+7 semanas 30 mg/kg (po) /6 semanas (3 veces/semana)	↓desarrollo del cáncer ; ↑angiogénesis; ↓apoptosis ↑ inductor potencial de apoptosis de TRAIL de xerógrafos PC-3 en ratones desnudos; ↓proliferación celular; ↓angiogénesis; ↑TRAIL-R1/DR4, TRAIL-R2/DR5, Bax y p27/(KIP1); ↓Bcl-2, ciclina-D1; ↓MMP-2, -9; ↓número de vasos sanguíneos en los tumores; ↓EGFR2; ↓p-FOXO3a	10 11
Hígado		Ratas Sprague–Dawley (hembras)	50, 100, 300 mg/kg pc/día (dieta) / 4+20 semanas	↓incidencias, número total y multiplicidad de nódulos de hepatocitos visibles;

			↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑Bax; ↓Bcl-2; ↓ hepatocarcinogénesis iniciada por DENA y promovida por PB; ↓ expresión hepática inducida por DENA de HSP70, COX-2, NF-κB; ↓niveles y expresión hepática, inducida por DENA, de TNF-α, IL-1β y IL-6; ↓peroxidación lipídica hepática y oxidación de proteínas inducida por DENA; ↑Nrf-2	
	Ratones BALB/c	15 mg/kg/ (ip) / 21 días (cada 2 días)	↓crecimiento de células HepG2, expresadoras de CAV1, trasplantadas en ratones hembra; ↓proliferación celular; ↑apoptosis; ↑caspasa 3; ↑p-p38, p-ERK	16
		5, 10, 15 mg/kg/día (ip) / 10 días	↓crecimiento y tamaño del tumor en ratones macho implantados con células H22 de hepatoma; interrupción del ciclo celular en S; ↑efecto aumentado de 5-FU (sinergia)	17
		5, 10, 15 mg/kg/día (ip) / 10 días	↓ crecimiento y tamaño del tumor en ratones implantados con células H22 de hepatoma ; ↓ciclina-B1; ↓p34cdc2	18
		500, 1000, 1500 mg/kg/día (ip) / 10 días	↓peso del tumor en ratones implantados con células H22 de hepatoma	19
	Ratones C57BL/6J	20 mg/kg b.i.d. (dieta) o 23 mg/L (en agua) / 10 días	↓crecimiento de células de carcinoma B16M; interrupción del ciclo celular en S y G <sub>2</sub> /M; ↑apoptosis; ↓ROS; ↓metástasis	20
	Ratas Wistar (machos)	20 mg/kg (ip) / 7 días	↓daño celular inducido por DOX; ↓aumento de la expresión de iNOS y eNOS inducida por DOX; ↓p53	21
		1 mg/kg (ip) / 7 días	↓contenido de células tumorales en ratas macho implantadas con células de hepatoma AH-130; interrupción del ciclo celular en G <sub>2</sub> /M; ↑apoptosis	22
	Ratas Donryu (machos)	10, 50 ppm (dieta) / 20 días	↓tamaño del tumor en ratas macho implantadas con células de hepatoma AH109A ; ↓peroxidación lipídica; ↓triglicéridos; ↓VLDL; ↓LDL	23
Mama	Ratones BALB/c (hembras)	100, 200 mg/kg (po) / 21 días	↓metástasis de células 4T1 en ratones BALB/c ; ↓actividad de MMP-9 en el plasma	24
	Ratones Atímicos nu/nu (hembras)	16.5 mg/kg/ (ip) / 2 semanas (3 veces/semana)	↑muerte inducida por placitaxel de células de cáncer MDA-MB-435s inyectadas; ↓apoptosis	25
	Ratones FVB/N (hembras)	1 mg/L en agua / 10 semanas	↓latencia; ↓número de tumores mamarios; ↓metástasis; ↑apoptosis	26
	Ratones Swiss	20, 40 mg/kg/día / 20 días	↓tamaño del tumor; ↑quimiopreención de cisplatina	27

**Anexo 1**

	(hembras)			
	Ratas Sprague-Dawley (hembras)	50 mg/kg pc/día (dieta) / 18 semanas	↓multiplicidad del tumor; ↓latencia del tumor; ↓tumorigénesis mamaria inducida por DMBA; ↓proliferación celular; ↑apoptosis	28
		0.5 mg/kg pc (dieta) / 120 días	↓tumorigénesis mamaria inducida por DMBA; ↓multiplicidad del tumor ; ↓incidencias de tumor; ↓COX-2; ↓MMP-9	29
Leucemia	Ratones BALB/c	12.5, 25, 50 mg/kg/día/3 semanas (ig) inyección p. con L1210 células	↑supervivencia de largo plazo de ratones poseedores de tumores (células L1210); ↑CD4/CD8; ↑proliferación de linfocitos; ↑actividad de células NK; ↓IL-6	30
Melanoma	Ratones C57BL/6 (hembras)	100 mg/kg pc (po) / 12 días	↓desarrollo del síndrome de fuga vascular inducido por IL-2; ↑crecimiento y metástasis tumoral;	31
	Ratones C57BL/6 (machos)	1 mg/kg (po) / 12 días	↓crecimiento metastásico del melanoma; ↓IL-8, VCAM-1; ↓efectos de adhesión y proliferación de IL-18; ↓NFκB	32
	Ratones SENCAR	Tópico / 4 semanas	↓hiperplasia de la piel inducida por DMBA; ↓Bcl-2; ↓p2; ↓COX-2; ↓CYP1B1; ↓c-jun y c-fos	33
	Ratones C3H/HeN (hembras)	10 μmol/ratón (tópico) / 25 semanas	↓incidencias de melanoma inducido por DMBA; ↓tamaño tumoral; ↓angiogénesis	34
	Ratones Swiss (hembras)	25-50 μM/ratón (tópico) / 28 semanas	↓hiperplasia de la piel inducida por DMBA; ↓Bcl-2, survivina; ↑p53, Bax inducida por DMBA; ↑Cit-c, activación de caspasas; ↑Apaf-1; ↓ruta PI3K/Akt	35
Neuroblastoma/ glioma	Ratones A/J (hembras)	20 mg/2 veces por semana (iv) / 20 días	↓crecimiento del tumor; ↑ terapia de inmunocitoquinas; ↑necrosis	36
	Ratones A/J (machos)	40 mg/kg/día (sc) / 28 días	↓crecimiento de neuroblastomas subcutáneos; ↑supervivencia de largo plazo	37
	Ratas Fischer 344	10 o 40 mg/kg/día(ip) / 4 semanas	↓crecimiento del tumor tras la inyección de células de glioma RT-2; ↑supervivencia de largo plazo; ↓densidad de los microvasos en los tejidos de glioma; ↑apoptosis	38
	Ratones desnudos BALB/cA	40 mg/kg (po) / 28 días	↑inhibición del crecimiento de células de glioma implantados inducido por TMZ; ↑AMPK; ↓mTOR, Bcl-2; ↑apoptosis	39
Estomago	Ratones desnudos BALB/c (hembras)	10 y 12.5 mg/kg (ip) / 12 días	↑inhibición del crecimiento y volumen de células de glioma implantadas en ratones; ↓autofagia mediada por ROS/ERK; ↑apoptosis	40
		500, 1000, 1500 mg/kg (sc) / 6	↓crecimiento del carcinoma tras la inyección de células primarias de cáncer gástrico humano;	41



## Anexo 1

		veces con un intervalo de 2 días	↑apoptosis; ↓Bcl-2; ↑Bax	
	Ratones NMRI (machos)	1 mg/kg (ip) / 3 días	↓crecimiento del tumor tras la implantación de células tumorales MAC16; ↓actividad de unión al NF-κB	42
Esófago	Ratas Sprague–Dawley (machos)	7 mg/kg (ip) / 5 meses	↓esofagitis después de anastomosis esofagoduodenal; ↓incidencias de metaplasia intestinal; ↓incidencias de carcinoma	43
	Ratas F344 (machos)	1, 2 mg/kg / 16 semanas (dieta), 20 semanas (ip)	↓número de tumores esofágicos inducidos por NMBA; ↓tamaño máximo de los tumores; ↓síntesis de COX-1, -2 y PGE <sub>2</sub>	44
Pulmón	Ratones inmunodeficientes	20 mg/kg (ip) / 8 semanas	↓crecimiento del tumor tras la inyección de células A549 y A549/FOXC2; ↓metástasis; ↓FOXC2	45
	Ratones C57BL/6 (hembras)	2.5 y 10 mg/kg (ip) / 22 días	↓crecimiento del tumor tras la inyección de células de carcinoma de pulmón de Lewis; ↓peso tumoral; ↓número de colonias de células tumorales comparadas con los ratones con LLC	46
Páncreas	Ratones BALB/c nu/nu	20, 40 y 60 mg/kg (po) / 6 semanas (5 días por semana)	↓crecimiento del tumor ; ↑apoptosis; ↓proliferación celular en tejidos tumorales; ↑Bim, p27/KIP1 y p21/CIP1, caspasa-3clivada; ↓PCNA; ↓p-ERK, p-PI3K, p-Akt, p-FOXO y p-FOXO3a	47

5-FU, 5-fluorouracil; ACF, focos de criptas aberrantes; Akt, proteína quinasa de serina/treonina; AMPK, proteína quinasa activada por adenosina monofosfato; AOM, azoximetano; APAF-1, factor de activación de proteasas apoptóticas 1; AR, receptor de andrógenos; BaP, benzo[a]pireno; Bcl-2, linfoma de células B 2; b.i.d., 2 veces por día; pc, peso corporal; CAV-1, caveolina-1; COX-2, ciclooxigenasa 2; CYP1B1, citocromo P450 1B1; Cit-c, citocromo C; DENA, dietilnitrosamina; DMBA, 7,12-dimetilbenzantraceno; DMH, 1,2-dimetilhidrazina; DOX, doxorubicina; DR4/5, miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral 10a/10b; EGFR, receptor de factores de crecimiento endoteliales; eNOS, sintasa de óxido nítrico endotelial; ERK, quinasa regulada por señales extracelulares; FOXC2, proteína en forma de horquilla C2; FOXO3a, factor de transcripción en forma de horquilla O3; po, oral; IGF-1, factor de crecimiento semejante a la insulina 1; IL, interleuquina; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; ig, intragástrico; ip, intraperitoneal; LDL, lipoproteína de baja densidad; MMP, metaloproteínasa de la matriz; mTOR, diana de la rapamicina en los mamíferos; NF-κB, factor nuclear kappa B; NK, células *natural killer*; Nrf-2, factor 2 asociado al factor nuclear eritroide 2; p27, inhibidor de quinasas dependiente de ciclina 27; p53, proteína tumoral 53; PGE<sub>2</sub>, prostaglandina E2; PI3K, fosfoinositol quinasa 3; ROS, especies reactivas de oxígeno; sc, subcutáneo; TMZ, temozolomida; TNFα, factor de necrosis tumoral alfa; TRAIL, ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF alfa; VCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares 1; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad. El efecto se indica por ↓: reducción; ↑: inducción; p-: estado de fosforilación.

## Anexo 1

### Referencias para Tabla Suplementaria 1.5.

- [1] Huderson AC, Myers JN, Niaz MS, Washington MK, *et al.* Chemoprevention of benzo(a)pyrene-induced colon polyps in Apc(Min) mice by resveratrol. *J Nutr Biochem* 2012; doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.04.005.
- [2] Cui X, Jin Y, Hofseth AB, Pena E, *et al.* Resveratrol suppresses colitis and colon cancer associated with colitis. *Cancer Prev Res* 2010; 3: 549-59.
- [3] Sale S, Tunstall RG, Ruparelia KC, Potter GA, *et al.* Comparison of the effects of the chemopreventive agent resveratrol and its synthetic analog trans 3,4,5,4'-tetramethoxystilbene (DMU-212) on adenoma development in the Apc(Min+) mouse and cyclooxygenase-2 in human-derived colon cancer cells. *Int J Cancer* 2005; 115: 194-201.
- [4] Sengottuvelan M, Nalini N. Dietary supplementation of resveratrol suppresses colonic tumour incidence in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats by modulating biotransforming enzymes and aberrant crypt foci development. *Br J Nutr* 2006; 96: 145-53.
- [5] Kineman BD, Au A, Paiva NL, Kaiser MS, *et al.* Transgenic alfalfa that accumulates piceid (Trans-Resveratrol-3-O-Beta-D-glucopyranoside) requires the presence of beta-glucosidase to inhibit the formation of aberrant crypt foci in the colon of CF-1 mice. *Nutr Cancer* 2007; 58: 66-74.
- [6] Tessitore L, Davit A, Sarotto I, Caderni G. Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21(CIP) expression. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1619-22.
- [7] Narayanan NK, Nargi D, Randolph C, Narayanan BA. Liposome encapsulation of curcumin and resveratrol in combination reduces prostate cancer incidence in PTEN knockout mice. *Int J Cancer* 2009; 125: 1-8.
- [8] Harper CE, Cook LM, Patel BB, Wang J, *et al.* Genistein and resveratrol, alone and in combination, suppress prostate cancer in SV-40 tag rats. *Prostate* 2009; 69: 1668-82.
- [9] Seeni A, Takahashi S, Takeshita K, Tang M, *et al.* Suppression of prostate cancer growth by resveratrol in the transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP) model. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9: 7-14.
- [10] Wang TT, Hudson TS, Wang TC, Remsberg CM, *et al.* Differential effects of resveratrol on androgen-responsive LNCaP human prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Carcinogenesis* 2008; 29: 2001-10.

## Anexo 1

- [11] Ganapathy S, Chen Q, Singh KP, Shankar S, *et al.* Resveratrol enhances antitumor activity of TRAIL in prostate cancer xenografts through activation of FOXO transcription factor. *PLoS One* 2010; 5: e15627.
- [12] Bishayee A, Dhir N. Resveratrol-mediated chemoprevention of diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis: inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis. *Chem Biol Interact* 2009; 179: 131-44.
- [13] Bishayee A, Waghray A, Barnes KF, Mbimba T, *et al.* Suppression of the inflammatory cascade is implicated in resveratrol chemoprevention of experimental hepatocarcinogenesis. *Pharm Res* 2010; 27: 1080-91.
- [14] Bishayee A, Barnes KF, Bhatia D, Darvesh AS, *et al.* Resveratrol suppresses oxidative stress and inflammatory response in diethylnitrosamine-initiated rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Prev Res* 2010; 3: 753-63.
- [15] Mbimba T, Awale P, Bhatia D, Geldenhuys WJ, *et al.* Alteration of hepatic proinflammatory cytokines is involved in the resveratrol-mediated chemoprevention of chemically-induced hepatocarcinogenesis. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13: 229-34.
- [16] Yang Hl, Chen Wq, Cao X, Du LF, *et al.* Caveolin-I enhances resveratrol-mediated cytotoxicity and transport in a hepatocellular carcinoma model. *J Transl Med* 2009; 7: 22.
- [17] Wu SL, Sun ZJ, Yu L, Meng KW, *et al.* Effect of resveratrol and in combination with 5-FU on murine liver cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3048-52.
- [18] Yu L, Sun ZJ, Wu SL, Pan CE. Effect of resveratrol on cell cycle proteins in murine transplantable liver cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2341-3.
- [19] Liu HS, Pan CE, Yang W, Liu XM. Antitumor and immunomodulatory activity of resveratrol on experimentally implanted tumor of H22 in BALB/c mice. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1474-6.
- [20] Asensi M, Medina I, Ortega A, Carretero J, *et al.* Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 387-98.
- [21] Oktem G, Uysal A, Oral O, Sezer ED, *et al.* Resveratrol attenuates doxorubicin-induced cellular damage by modulating nitric oxide and apoptosis. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64: 471-9.
- [22] Carbó N, Costelli P, Baccino FM, López-Soriano FJ, *et al.* Resveratrol, a natural product present in wine, decreases tumour growth in a rat tumour model. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254: 739-43.

## Anexo 1

- [23] Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci* 2003; 73: 1393-400.
- [24] Lee HS, Ha AW, Kim WK. Effect of resveratrol on the metastasis of 4T1 mouse breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Nutr Res Pract* 2012; 6: 294-300.
- [25] Fukui M, Yamabe N, Zhu BT. Resveratrol attenuates the anticancer efficacy of paclitaxel in human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1882-91.
- [26] Provinciali M, Re F, Donnini A, Orlando F, *et al.* Effect of Resveratrol on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer* 2005; 115: 36-45.
- [27] El-Mowafy AM, El-Mesery ME, Salem HA, Al-Gayyar MM, *et al.* Prominent chemopreventive and chemoenhancing effects for resveratrol: unraveling molecular targets and the role of C-reactive protein. *Chemotherapy* 2010; 56: 60-5.
- [28] Whitsett TG Jr, Carpenter DM, Lamartiniere CA. Resveratrol, but not EGCG, in the diet suppresses DMBA-induced mammary cancer in rats. *J Carcinog* 2006; 5: 15.
- [29] Banerjee S, Bueso-Ramos C, Aggarwal BB. Suppression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: Role of nuclear factor-kappa B, cyclooxygenase 2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Res* 2002; 62: 4945-54.
- [30] Li T, Fan GX, Wang W, Li T, *et al.* Resveratrol induces apoptosis, influences IL-6 and exerts immunomodulatory effect on mouse lymphocytic leukemia both *in vitro* and *in vivo*. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 1221-31.
- [31] Guan H, Singh NP, Singh UP, Nagarkatti PS, *et al.* Resveratrol prevents endothelial cells injury in high-dose interleukin-2 therapy against melanoma. *PLoS One* 2012; 7: e35650.
- [32] Salado C, Olaso E, Gallot N, Valcarcel M, *et al.* Resveratrol prevents inflammation-dependent hepatic melanoma metastasis by inhibiting the secretion and effects of interleukin-18. *J Transl Med* 2011; 9: 59.
- [33] Kowalczyk MC, Kowalczyk P, Tolstykh O, Hanausek M, *et al.* Synergistic effects of combined phytochemicals and skin cancer prevention in SENCAR mice. *Cancer Prev Res* 2010; 3: 170-8.
- [34] Yusuf N, Nasti TH, Meleth S, Elmets CA. Resveratrol enhances cell-mediated immune response to DMBA through TLR4 and prevents DMBA induced cutaneous carcinogenesis. *Mol Carcinogen* 2009; 48: 713-23.

## Anexo 1

- [35] Roy P, Kalra N, Prasad S, George J, *et al.* Chemopreventive Potential of Resveratrol in Mouse Skin Tumors Through Regulation of Mitochondrial and PI3K/AKT Signaling Pathways. *Pharm Res* 2009; 26: 211-7.
- [36] Soto BL, Hank JA, Van De Voort TJ, Subramanian L, *et al.* The anti-tumor effect of resveratrol alone or in combination with immunotherapy in a neuroblastoma model. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 731-8.
- [37] Chen Y, Tseng SH, Lai HS, Chen WJ. Resveratrol-induced cellular apoptosis and cell cycle arrest in neuroblastoma cells and antitumor effects on neuroblastoma in mice. *Surgery* 2004; 136: 57-66.
- [38] Tseng SH, Lin SM, Chen JC; Su YH, *et al.* Resveratrol suppresses the angiogenesis and tumor growth of gliomas in rats. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2190-202.
- [39] Yuan Y, Xue X, Guo RB, Sun XL, *et al.* Resveratrol enhances the antitumor effects of temozolomide in glioblastoma via ROS-dependent AMPK-TSC-mTOR signaling pathway. *CNS Neurosci Ther* 2012; 18: 536-46.
- [40] Lin CJ, Lee CC, Shih YL, Lin TY, *et al.* Resveratrol enhances the therapeutic effect of temozolomide against malignant glioma *in vitro* and *in vivo* by inhibiting autophagy. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 377-91.
- [41] Zhou HB, Chen JJ, Wang WX, Cai JT, *et al.* Anticancer activity of resveratrol on implanted human primary gastric carcinoma cells in nude mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 280-4.
- [42] Wyke SM, Russell ST, Tisdale MJ. Induction of proteasome expression in skeletal muscle is attenuated by inhibitors of NF-kappaB activation. *Br J Cancer* 2004; 91: 1742-50.
- [43] Woodall CE, Li Y, Liu QH, Wo J, *et al.* Chemoprevention of metaplasia initiation and carcinogenic progression to esophageal adenocarcinoma by resveratrol supplementation. *Anti Cancer Drug* 2009; 20: 437-43.
- [44] Li ZG, Hong T, Shimada Y, Komoto I, *et al.* Suppression of Nnitrosomethylbenzylamine (NMBA)-induced esophageal tumorigenesis in F344 rats by resveratrol. *Carcinogenesis* 2002; 23: 1531-6.
- [45] Yu YH, Chen HA, Chen PS, Cheng YJ, *et al.* MiR-520h-mediated FOXC2 regulation is critical for inhibition of lung cancer progression by resveratrol. *Oncogene* 2012; doi: 10.1038/onc.2012.74.

## Anexo 1

- [46] Kimura Y, Okuda H. Resveratrol isolated from *Polygonum cuspidatum* root prevents tumor growth and metastasis to lung and tumor-induced neovascularization in Lewis lung carcinoma-bearing mice. *J Nutr* 2001; 131: 1844-49.
- [47] Roy SK, Chen Q, Fu J, Shankar S, *et al.* Resveratrol inhibits growth of orthotopic pancreatic tumors through activation of FOXO transcription factors. *PLoS One* 2011; 6: e25166.

**Anexo 1**

**Tabla Suplementaria 1.6.** Efectos de la exposición al RES en animales modelo de enfermedad cardiovascular.

Modelo	Modelo Animal	Efecto	Tratamiento	Duración	Referencia
Hipertensión/Función Vascular	Ratón	↓Presión sanguínea	~10 mg/kg pc/día	2; 4 semanas	1
		↓Presión sanguínea	1-800 mg/kg pc/día	2h-10 semanas	2-10
	Rata	→ Presión sanguínea	2.5 mg/kg pc/día	5; 10 semanas	11-13
		↓Hipertrofia cardiaca	2.5-800 mg/kg pc/día	5 días-10 semanas	5, 8, 13-16
		↑Tasa de supervivencia	10-800 mg/kg pc/día	21 días-8 semanas	5, 16-18
		↓Presión sistólica del ventrículo derecho	3-30 mg/kg pc b.i.d.	14-21 días	16, 19, 20
		↓Contractilidad cardiaca	1-3 mg/kg pc/día	14 días; 4 semanas	6, 20
		↓Remodelación vascular	2.5; 25 mg/kg pc/día	1-8 semanas	19, 21
		↓Disfunción cardiaca	2.5; 18 mg/kg pc/día	2-10 semanas	12, 13, 15, 17, 18, 22
		↑Función ventricular izquierda	0.1-20 mg/kg pc/día	1-4 semanas	23-26
	Cerdo	↑Función ventricular izquierda	5 mg/kg pc/día	14 días	27
	Ratón	↑Actividad de SOD; ↑GPx-1	10-100 mg/kg pc/día	1; 2 semanas	28, 29
		↑GSH	10; 20 mg/kg pc/día	15 días	28
		↑HO-1	50 mg/kg pc (3 veces/semana)	21 días	30
		↑eNOS; ↓NOX-2	20 mg/kg pc/día	4 semanas	31
	Rata	↑GSH	10; 30 mg/kg pc/día	10 días; 8 semanas	34, 35
		↑HO-1; ↓NOX-1; ↓NOX-2, ↓NOX-4; ↓O <sub>2</sub> <sup>-</sup> aórtico	30 mg/kg (dosis única)	-	32
		↑Actividad de SOD	5-30 mg/kg pc/día	4-10 semanas	4, 35, 36
		↓Actividad de MPO	0.56-30 mg/kg pc/día	2h; 10 días	34, 37
		↑Actividad de catalasa	10-100 mg/kg pc/día	7 días-8 semanas	29, 35, 36
	↓NO	10 mg/kg pc/día	8 semanas	30	
	↑NO	5;50 mg/kg pc/día	4; 10 semanas	4, 33	
	↑Relajación endotelial	5-10 mg/kg pc/día; 50mg/L en agua	3-10 semanas	2, 4, 8, 38	
	↑eNOS	5 mg/kg pc/día; 50mg/L en agua	6-10 semanas	2, 4, 8	
	↓Generación de superóxido	50 mg/kg pc/día; 50mg/L en agua	10; 12 semanas	2, 10	

**Anexo 1**

		Inferior			
Inferior de miocardio/Isquemia/Enfermedad del corazón	Rata	↓Mortalidad	5 mg/kg pc/día	4 semanas	39
		↓Tamaño del infarto de miocardio	1-5mg/kg pc/día	7 días-4 semanas	25, 39-44
		→ Tamaño del infarto de miocardio	17 mg/kg pc/día	3 meses	45
		↓Isquemia miocárdica aguda/Reperusión	0.1; 1mg/kg + insulina/día	5 días	41
		↓Disfunción ventricular	5 mg/kg pc/día	2; 4 semanas	39, 42
		↑Microentorno cardiaco	2.5 mg/kg pc/día	1-8 semanas	46
		↑densidad capilar	20 mg/kg pc/día	2 semanas	26
	Cerdo	↑Riego sanguíneo tisular durante el estrés; ↑Función inferolateral	100 mg/kg pc/día	7 semanas	47
		↓Disrupción y alteración de las fibras elásticas de la aorta;	8 mg/70kg pc/día	12 meses	48
		↓Grosor de la íntima; ↓Acumulación aortica de células de grasa y O <sub>2</sub> <sup>-</sup>			

b.i.d., 2 veces por día; pc, peso corporal; COX, ciclooxigenasa; eNOS, sintasa endotelial óxido nítrico; GPx, glutatona peroxidasa; GSH, glutatona; MPO, mieloperoxidasa; NO, óxido nítrico ; SOD, superóxido dismutasa; ↓, reducción; ↑, inducción; →, ausencia de efecto.



## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.6.

- [1] Inanaga K, Ichiki T, Matsuura H, Miyazaki R, *et al.* Resveratrol attenuates angiotensin II-induced interleukin-6 expression and perivascular fibrosis. *Hypertens Res* 2009; 32: 466-71.
- [2] Akar F, Uludağ O, Aydın A, Aytekin YA, *et al.* High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 2135-41.
- [3] Aubin MC, Lajoie C, Clement R, Gosselin H, *et al.* Female rats fed a high-fat diet were associated with vascular dysfunction and cardiac fibrosis in the absence of overt obesity and hyperlipidemia: therapeutic potential of resveratrol. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 325: 961-8.
- [4] Bhatt SR, Lokhandwala MF, Banday AA. Resveratrol prevents endothelial nitric oxide synthase uncoupling and attenuates development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2011; 667: 258-64.
- [5] Biala A, Tauriainen E, Siltanen A, Shi J *et al.* Resveratrol induces mitochondrial biogenesis and ameliorates Ang II-induced cardiac remodeling in transgenic rats harboring human renin and angiotensinogen genes. *Blood Press* 2010; 19: 196-205.
- [6] Chan V, Fenning A, Iyer A, Hoey A, *et al.* Resveratrol improves cardiovascular function in DOCA-salt hypertensive rats. *Curr Pharm Biotechnol* 2011; 12: 429-36.
- [7] Chen C, Yang W, Xueding C, Qi Z, *et al.* Resveratrol downregulates acute pulmonary thromboembolism-induced pulmonary artery hypertension via p38 mitogen-activated protein kinase and monocyte chemoattractant protein-1 signaling in rats. *Life Sci* 2012; 90: 721-7.
- [8] Miatello R, Vazquez M, Renna N, Cruzado M, *et al.* Chronic administration of resveratrol prevents biochemical cardiovascular changes in fructose-fed rats. *Am J Hypertens* 2005; 18: 864-70.
- [9] Rivera L, Moron R, Zarzuelo A, Galisteo M. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 1053-63.

## Anexo 1

- [10] Subramanian M, Balasubramanian P, Garver H, Northcott C, Zhao *et al.* Chronic estradiol-17 $\beta$  exposure increases superoxide production in the rostral ventrolateral medulla and causes hypertension: reversal by resveratrol. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300: R1560-8.
- [11] Behbahani J, Thandapilly SJ, Louis XL, Huang Y, Shao Z, *et al.* Resveratrol and small artery compliance and remodeling in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 2010; 23: 1273-8.
- [12] Louis XL, Thandapilly SJ, Mohankumar SK, Yu L, *et al.* Treatment with low-dose resveratrol reverses cardiac impairment in obese prone but not in obese resistant rats. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 1163-9.
- [13] Thandapilly SJ, Wojciechowski P, Behbahani J, Louis XL, *et al.* Resveratrol prevents the development of pathological cardiac hypertrophy and contractile dysfunction in the SHR without lowering blood pressure. *Am J Hypertens* 2010; 23: 192-6.
- [14] Planavila A, Iglesias R, Giralt M, Villarroya F. Sirt1 acts in association with PPAR $\alpha$  to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Cardiovasc Res* 2011; 90: 276-84.
- [15] Wojciechowski P, Juric D, Louis XL, Thandapilly SJ, *et al.* Resveratrol arrests and regresses the development of pressure overload – but not volume overload-induced cardiac hypertrophy in rats. *J Nutr* 2010; 140: 962-8.
- [16] Yang DL, Zhang HG, Xu YL, Gao YH, *et al.* Resveratrol inhibits right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2010; 37: 150-5.
- [17] Rimbaud S, Ruiz M, Piquereau J, Mateo P, *et al.* Resveratrol improves survival, hemodynamics and energetics in a rat model of hypertension leading to heart failure. *PLoS One* 2011; 6: e26391.
- [18] Sulaiman M, Matta MJ, Sunderesan NR, Gupta MP, *et al.* Resveratrol, an activator of SIRT1, upregulates sarcoplasmic calcium ATPase and improves cardiac function in diabetic cardiomyopathy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2010; 298: H833-43.
- [19] Csiszar A, Labinsky N, Olson S, Pinto JT, *et al.* Resveratrol prevents monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Hypertension* 2009; 54: 668-75.

## Anexo 1

- [20] Paffett ML, Hesterman J, Candelaria G, Lucas S, *et al.* Longitudinal *In vivo* SPECT/CT Imaging Reveals Morphological Changes and Cardiopulmonary Apoptosis in a Rodent Model of Pulmonary Arterial Hypertension. *PLoS One* 2012; 7: e40910.
- [21] Delucchi F, Berni R, Frati C, Cavalli S, Graiani *et al.* Resveratrol treatment reduces cardiac progenitor cell dysfunction and prevents morpho-functional ventricular remodeling in type-1 diabetic rats. *PLoS One* 2012; 7: e39836.
- [22] Gurusamy N, Lekli I, Mukherjee S, Ray D, *et al.* Cardioprotection by resveratrol: a novel mechanism via autophagy involving the mTORC2 pathway, *Cardiovasc Res* 2010; 86: 103-12.
- [23] Dolinsky VW, Chan AY, Robillard Frayne I, Light PE, *et al.* Resveratrol prevents the prohypertrophic effects of oxidative stress on LKB1, *Circulation* 2009; 119: 1643-52.
- [24] Fukuda S, Kaga S, Zhan L, Bagchi D, *et al.* Resveratrol ameliorates myocardial damage by inducing vascular endothelial growth factor-angiogenesis and tyrosine kinase receptor Flk-1. *Cell Biochem Biophys* 2006; 44: 43-9.
- [25] Lin JF, Lin SM, Chih CL, Nien MW, *et al.* Resveratrol reduces infarct size and improves ventricular function after myocardial ischemia in rats. *Life Sci* 2008; 83: 313—7.
- [26] Penumathsa SV, Thirunavukkarasu M, Koneru S, Juhasz B, *et al.* Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 508-16.
- [27] Al-Dissi AN, Weber LP. Resveratrol preserves cardiac function, but does not prevent endothelial dysfunction or pulmonary inflammation after environmental tobacco smoke exposure. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 1584-91.
- [28] Ramar M, Manikandan B, Raman T, Priyadarsini A, *et al.* Protective effect of ferulic acid and resveratrol against alloxan-induced diabetes in mice. *Eur J Pharmacol* 2012; 690:226-35.
- [29] Xia N, Daiber A, Habermeier A, Closs EI, *et al.* Resveratrol reverses endothelial nitric-oxide synthase uncoupling in apolipoprotein E knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 335: 149-54.

## Anexo 1

- [30] Kim JW, Lim SC, Lee MY, Lee JW, *et al.* Inhibition of neointimal formation by trans-resveratrol: role of phosphatidyl inositol 3- kinase-dependent Nrf2 activation in heme oxygenase-1 induction. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 1497-505.
- [31] Zhang H, Zhang J, Ungvari Z, Zhang C. Resveratrol improves endothelial function: role of TNF(alpha) and vascular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1164-71.
- [32] Yu HP, Hwang TL, Yen CH, Lau YT. Resveratrol prevents endothelial dysfunction and aortic superoxide production after trauma hemorrhage through estrogen receptor-dependent hemeoxygenase-1 pathway. *Crit Care Med* 2010; 38: 1147-54.
- [33] Liu Z, Song Y, Zhang X, Zhang W, *et al.* Effects of trans-resveratrol on hypertension-induced cardiac hypertrophy using the partially nephrectomized rat model. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32 1049-54.
- [34] Alturfan AA, Tozan-Beceran A, Sehirli AO, Demiralp E, *et al.* Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 4589-96.
- [35] Bagul PK, Middela H, Matapally S, Padiya R, *et al.* Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacol Res* 2012; 66: 260-8.
- [36] Franco JG, Lisboa PC, Lima NS, Amaral TA, *et al.* Resveratrol attenuates oxidative stress and prevents steatosis and hypertension in obese rats programmed by early weaning. *J Nutr Biochem* 2012; doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.06.019.
- [37] Petrat F, de Groot H. Protection against severe intestinal ischemia/reperfusion injury in rats by intravenous resveratrol. *J Surg Res.* 2011; 167: e145-55.
- [38] Mizutani K, Ikeda K, Kawai Y, Yamori Y. Resveratrol attenuates ovariectomy-induced hypertension and bone loss in stroke-prone spontaneously hypertensive rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol* 2000; 46: 78-83.
- [39] Chen YR, Yi FF, Li XY, Wang CY, *et al.* Resveratrol attenuates ventricular arrhythmias and improves the long-term survival in rats with myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2008; 22: 479-85.

## Anexo 1

- [40] Das S, Tosaki A, Bagchi D, Maulik N, *et al.* Potentiation of a survival signal in the ischemic heart by resveratrol through p38 mitogen-activated protein kinase/mitogen- and stress-activated protein kinase 1/cAMP response element-binding protein signaling. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 317: 980-8.
- [41] Huang JP, Huang SS, Deng JY, Chang CC, *et al.* Insulin and resveratrol act synergistically, preventing cardiac dysfunction in diabetes, but the advantage of resveratrol in diabetics with acute heart attack is antagonized by insulin. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 1710-21.
- [42] Lekli I, Szabo G, Juhasz B, Das S, *et al.* Protective mechanisms of resveratrol against ischemia/reperfusion-induced damage in hearts obtained from Zucker obese rats: the role of GLUT-4 and endothelin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 294: H859-66.
- [43] Mukherjee S, Lekli I, Gurusamy N, Bertelli AA, *et al.* Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 573-8.
- [44] Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, Juhasz B, *et al.* Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radic Biol Med* 2007; 43: 720-9.
- [45] Burstein B, Maguy A, Clement R, Gosselin H, *et al.* Effects of resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihydroxystilbene) treatment on cardiac remodelling following myocardial infarction. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 323: 916-23.
- [46] Delucchi F, Berni R, Frati C, Cavalli S, *et al.* Resveratrol treatment reduces cardiac progenitor cell dysfunction and prevents morpho-functional ventricular remodeling in type-1 diabetic rats. *PLoS One* 2012; 7: e39836.
- [47] Robich MP, Osipov RM, Nezafat R, Feng J, *et al.* Resveratrol improves myocardial perfusion in a swine model of hypercholesterolemia and chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2010; 122: S142-9.
- [48] Azorín-Ortuño M, Yañez-Gascón MJ, Pallarés FJ, Rivera J, *et al.* A dietary resveratrol-rich grape extract prevents the developing of atherosclerotic lesions in the aorta of pigs fed an atherogenic diet. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 5609-20.

**Anexo 1**

**Tabla Suplementaria 1.7.** Efectos de la exposición al RES en los niveles de insulina, glucosa y lípidos de modelos animales de obesidad, diabetes y trastornos metabólicos.

Modelo	Modelo Animal	Efecto	Tratamiento	Duración	Referencia
Obesidad/Diabetes/Disfunción metabólica	Ratón	↓Insulina	~80 ng/día-50 mg/kg pc b.i.d.	2 semanas-6 meses	1-4
		↑Sensibilidad a la insulina	~2.5-400 mg/kg pc/día	8-20 semanas	5-7
		→ Sensibilidad a la insulina (AMPK $\alpha$ 1 <sup>-/-</sup> )	400 mg/kg pc/día	12 semanas	8
	Rata	↓Insulina	5-100 mg/kg pc/día	4-10 semanas	9-11
		↑Insulina	2.5 mg/kg pc/día	5 semanas	12
		↑Sensibilidad a la insulina	10-300 mg/kg pc/día	8-10 semanas	11, 13, 14
	Cerdo	↑Sensibilidad a la insulina	100 mg/kg pc/día	11 semanas	15
	Lémur	↑Sensibilidad a la insulina	200 mg/kg pc/día	33 meses	16
	Conejo	↓Insulina; → Glucosa	~1.5; 17 mg/kg pc/día	10 semanas	17
	Ratón	↓Glucosa	~80 ng/día-400 mg/kg pc/día	2 semanas-1 año	1-4, 18-20
	Lémur	↓Glucosa	200 mg/kg pc/día	33 meses	16
	Rata	↓Glucosa	0.1-10 mg/kg pc/día	1-8 semanas	9, 10, 12, 14, 21-23
		→ Glucosa	2.5 mg/kg pc/día	1-8 semanas	24
	Ratón	↓Colesterol total; ↓Triglicéridos; ↓FFA	~7-400 mg/kg pc/día	6; 10 semanas	18, 20
		↓ApoB/ApoA1; ↑Adiponectina	~7; 30 mg/kg pc/día	6 semanas	18
		↓Grado de esteatosis	200 mg/kg pc/día	20 semanas	6
		Rata	↓Triglicéridos	2.5-30 mg/kg pc/día	4-10 semanas
	↓FFA		10 mg/kg pc/día	8 semanas	10
↑HDLc	2.5-15 mg/kg pc/día		4-8 semanas	12, 26, 27	

## Anexo 1

	↓LDLc	2.5; 10 mg/kg pc/día	4-8 semanas	12, 26
	↓Colesterol total	10-45 mg/kg pc/día	6-8 semanas	10, 27
	↓Grado de esteatosis	15-44 mg/kg pc/día	4-6 semanas	25, 27, 28
	↓Grasa abdominal	10; 100 mg/kg pc/día	8-10 semanas	10, 11
	↓Tamaño del tejido adiposo blanco	6, 30, 60 mg/kg pc/día	6 semanas	29
Cerdo	↓LDLc; ↓Colesterol total	100 mg/kg pc/día	7-11 semanas	15, 19
Ratón	↓Desregulación metabólica	400 mg/kg pc/día	12 semanas	8
Rata	↓Desregulación metabólica	1; 50 mg/kg pc/día	5 días-15 semanas	30, 31

---

AMPK, proteína quinasa activada por AMP; Apo, apolipoproteína; b.i.d., 2 veces por día; pc, peso corporal; FFA, ácidos grasos libres; HDLc, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; ↓, reducción; ↑, inducción; →, ausencia de efecto.

## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.7.

- [1] Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, *et al.* Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-42.
- [2] Kang W, Hong HJ, Guan J, Kim DG, *et al.* Resveratrol improves insulin signaling in a tissue-specific manner under insulin-resistant conditions only: *in vitro* and *in vivo* experiments in rodents. *Metabolism* 2012; 61: 424-33.
- [3] Ramadori G, Gautron L, Fujikawa T, Vianna CR, *et al.* Central administration of resveratrol improves diet-induced diabetes. *Endocrinology* 2009; 150: 5326-33.
- [4] Sharma S, Misra CS, Arumugam S, Roy S, *et al.* Antidiabetic activity of resveratrol, a known SIRT1 activator in a genetic model for type-2 diabetes. *Phytother Res* 2011; 25: 67-73.
- [5] Gonzalez-Rodriguez A, Mas Gutierrez JA, Sanz-Gonzalez S, Ros M, *et al.* Inhibition of PTP1B restores IRS1-mediated hepatic insulin signaling in IRS2-deficient mice. *Diabetes* 2010; 59: 588-99.
- [6] Jeon BT, Jeong EA, Shin HJ, Lee Y, *et al.* Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes* 2012; 61: 1444-54.
- [7] Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, *et al.* Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127: 1109-22.
- [8] Um JH, Park SJ, Kang H, Yang S, *et al.* AMP-activated protein kinase-deficient mice are resistant to the metabolic effects of resveratrol. *Diabetes* 2010; 59: 554-63.
- [9] Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 2008; 62: 598-605.
- [10] Rivera L, Moron R, Zarzuelo A, Galisteo M Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 1053-63.
- [11] Shang J, Chen LL, Xiao FX, Sun H, *et al.* Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMPactivated protein kinase. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 698-706.



## Anexo 1

- [12] Louis XL, Thandapilly SJ, Mohankumar SK, Yu L, *et al.* Treatment with low-dose resveratrol reverses cardiac impairment in obese prone but not in obese resistant rats. *J Nutr Biochem* 2012; 23:1163-9.
- [13] Andersen G, Burkon A, Sulzmaier FJ, Walker JM, *et al.* High dose of dietary resveratrol enhances insulin sensitivity in healthy rats but does not lead to metabolite concentrations effective for SIRT1 expression. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 1197-206.
- [14] Bagul PK, Middela H, Matapally S, Padiya R, *et al.* Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacol Res* 2012; 66: 260-8.
- [15] Robich MP, Osipov RM, Chu LM, Han Y, *et al.* Resveratrol modifies risk factors for coronary artery disease in swine with metabolic syndrome and myocardial ischemia. *Eur J Pharmacol* 2011; 664: 45-53.
- [16] Marchal J, Blanc S, Epelbaum J, Aujard F, *et al.* Effects of chronic calorie restriction or dietary resveratrol supplementation on insulin sensitivity markers in a primate, *Microcebus murinus*. *PLoS One* 2012; 7: e34289.
- [17] Akar F, Uludağ O, Aydın A, AYTEKIN YA, *et al.* High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 2135-41.
- [18] Do GM, Jung UJ, Park HJ, Kwon EY, *et al.* Resveratrol ameliorates diabetes-related metabolic changes via activation of AMP-activated protein kinase and its downstream targets in db/db mice. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56: 1282-91.
- [19] Kim YH, Kim YS, Kang SS, Cho GJ *et al.* Resveratrol inhibits neuronal apoptosis and elevated Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II activity in diabetic mouse retina. *Diabetes* 2010; 59: 1825-35.
- [20] Kim S, Jin Y, Choi Y, Park T. Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Biochem Pharmacol* 2011; 81: 1343-51.
- [21] Huang JP, Huang SS, Deng JY, Chang CC, *et al.* Insulin and resveratrol act synergistically, preventing cardiac dysfunction in diabetes, but the advantage of resveratrol in diabetics with acute heart attack is antagonized by insulin. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 1710-21.

## Anexo 1

- [22] Rocha KK, Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, *et al.* Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1362-7.
- [23] Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, Juhasz B, *et al.* Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radic Biol Med* 2007; 43: 720-9.
- [24] Delucchi F, Berni R, Frati C, Cavalli S, *et al.* Resveratrol treatment reduces cardiac progenitor cell dysfunction and prevents morpho-functional ventricular remodeling in type-1 diabetic rats. *PLoS One* 2012; 7: e39836.
- [25] Franco JG, Lisboa PC, Lima NS, Amaral TA, *et al.* Resveratrol attenuates oxidative stress and prevents steatosis and hypertension in obese rats programmed by early weaning. *J Nutr Biochem* 2012; Epub ahead of print. doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.06.019.
- [26] Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Mechanisms underlying vascular effect of chronic resveratrol in streptozotocin-diabetic rats. *Phytother Res* 2010; 24 Suppl 2: S148-54.
- [27] Gómez-Zorita S, Fernández-Quintela A, Macarulla MT, Aguirre L, *et al.* Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *Br J Nutr* 2012; 107: 202-10.
- [28] Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M, *et al.* Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 40.
- [29] Macarulla MT, Alberdi G, Gomez S, Tueros I, *et al.* Effects of different doses of resveratrol on body fat and serum parameters in rats fed a hypercaloric diet. *J Physiol Biochem* 2009; 65: 369-76.
- [30] Deng JY, Hsieh PS, Huang JP, Lu LS, *et al.* Activation of estrogen receptor is crucial for resveratrol-stimulating muscular glucose uptake via both insulin-dependent and -independent pathways. *Diabetes* 2008; 57: 1814-23.
- [31] Planavila A, Iglesias R, Giralt M, Villarroya F. Sirt1 acts in association with PPAR $\alpha$  to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Cardiovasc Res* 2011; 90: 276-84.

**Anexo 1**

**Tabla Suplementaria 1.8.** Dianas anti-inflamatorias del RES en animales modelo y mecanismos relacionados.

Modelo Animal	Efectos y Mecanismos	Tratamiento	Duración	Referencia
Ratón	↓TNF- $\alpha$	~3-100 mg/kg pc/día	14-62 días	1-8
	→ TNF- $\alpha$	500, 1000, 1500 mg/kg pc/día	10 días	9
	↓IFN $\gamma$	10-100 mg/kg pc/día	14-62 días	1,6,7
	↓CRP	20; 40 mg/kg pc/día	20 días	2
	↓IL-6	~2-50 mg/kg pc/día	14 días-4 semanas	6,10-12
	↑IL-6	10 mg/kg pc/día	30 días	4
	↑IL-3; ↓sTNF RI, subunidad p55; ↓IL-6; ↓MIP; ↓MIG; ↓MPO	2.1 mg/kg pc/día	29 días	11
	↑IL-10; ↓PGES-1	~3 mg/kg pc/día	26 días	3
	↓IL-1 $\beta$	~3-100 mg/kg pc/día	14-30 días	3,4,6
	↓COX-2; ↓iNOS	~3-100 mg/kg pc/día	14-26 días	3,6
	↓IL-8	30; 60 mg/kg pc/día	14 días	7
	↓Reclutamiento de leucocitos; ↓IL-4; ↓IL-5	30 mg/kg pc/día	32 días	13
	↓MIP1a; ↓MCP-1	100 mg/kg pc/día; mezcla P183/	32 días; 8 semanas	14,15
	↓IL12p40; ↓IL13; ↑IL17; ↑G-CSF; ↓RANTES	100 mg/kg pc/día	32 días	15
	↓ODC; ↓COX	25 mol en 200 $\mu$ L acetona/ratón	-	16
	↓NF- $\kappa$ B	10, 20 mg/kg pc/día	15 días	17
	↓ICAM-1; ↓VCAM-1; ↓ actividad de la HMG-CoA reductasa hepática	0.02, 0.06% w/w en el pienso	20 semanas	18
	↑ Activación de AMPK	~7-30 mg/kg pc/día	6 semanas	19
	↓ Infiltración de macrófagos	200 mg/kg pc/día	20 semanas	20
	Rata	↓TNF- $\alpha$	5~44 mg/kg pc/día	5 días-8 semanas
↓NF- $\kappa$ Bp65		10; 20 mg/kg pc/día	2-10 semanas	23,24,30
↓COX-2		8-40 mg/kg pc/día	2-15/30 semanas	24,31
↑PGE2		10 mg/kg pc/día	2 semanas	24
↓PGE2; ↓PGES-1; ↓NO; ↓COX-2; ↓Infiltración de células inflamatorias; 2,655 genes fueron diferentemente modulados en la mucosa del colon distal		1 mg/kg pc/día	25 días	25
↓IL-1 $\beta$		5-10 mg/kg pc/día	7-30 días	21,26,27,29
↓iNOS		10-25 mg/kg pc/día	~1 semana	26,33
↓IL-6		5-25 mg/kg pc/día	~1 semana-4 semanas	21,23,27,29,33

### Anexo 1

	mRNA: ↓IL-6; ↓IL-1; ↓TNF- $\alpha$ ; ↓PDGF $\alpha$ ; ↓PDGF $\beta$ ; ↓MCP-1	25 mg/kg pc/día	14 o 21 días	34
	↓IL-1; ↓ICAM1	25 mg/kg pc/día	~1 semana	33
	↑Activación de AMPK	2.5 mg/kg pc/día	2 semanas	35
	↓Expresión de PPAR $\alpha$	18 mg/kg/día	8 semanas	36
	↑Sirt 1	300 mg/kg pc/día; 50 mL/L en agua	8; 10 semanas	37,38
	↓TGF $\beta$	10 mg/kg pc/día	2 semanas	29
Conejo	↑Inhibición de la agregación plaquetaria	4 mg/kg pc/día	12 semanas	39

AMPK, proteína quinasa activada por AMP; b.i.d., 2 veces por día; pc, peso corporal; COX, ciclooxigenasa; CRP, proteína C reactiva; eNOS, sintasa de óxido nítrico endotelial; GCS-F, factor estimulador de colonias de granulocitos; IL, interleuquina; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; MCP, proteína quimiotáctica de monocitos; MIP, proteína inflamatoria de macrófagos; MIG, monoquina inducida por el interferón gamma; MPO, mieloperoxidasa; NF- $\kappa$ B, factor nuclear kappa B; NO, óxido nítrico; ODC, ornitina descarboxilasa; PGE2, prostaglandina E2; PGES-1, prostaglandina E sintasa 1; sTNFRI, receptor soluble del factor de necrosis tumoral I; TNF, factor de necrosis tumoral; ↓, reducción; ↑, inducción; →, ausencia de efecto.

## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.8.

- [1] Cui X, Jin Y, Hofseth AB, Pena E, Habiger J *et al.* Resveratrol suppresses colitis and colon cancer associated with colitis. *Cancer Prev Res* 2010; 3: 549-59.
- [2] El-Mowafy AM, El-Mesery ME, Salem HA, Al-Gayyar MM, *et al.* Prominent chemopreventive and chemoenhancing effects for resveratrol: unraveling molecular targets and the role of C-reactive protein. *Chemotherapy* 2010; 56: 60-5.
- [3] Sanchez-Fidalgo S, Cardeno A, Villegas I, Talero E, *et al.* Dietary supplementation of resveratrol attenuates chronic colonic inflammation in mice. *Eur J Pharmacol* 2010; 633: 78-84.
- [4] Sehirlı O, Tozan A, Omurtag GZ, Cetinel S, *et al.* Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 2008; 71: 301-8.
- [5] Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK. Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother Res* 2007; 21: 278-83.
- [6] Singh UP, Singh NP, Singh B, Hofseth LJ, *et al.* Resveratrol (trans-3,5,49-trihydroxystilbene) induces silent mating type information regulation-1 and down-regulates nuclear transcription factor-kappa B activation to abrogate dextran sulfate sodium-induced colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 332: 829-39.
- [7] Yao J, Wang JY, Liu L, Li YX, *et al.* Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS-induced ulcerative colitis. *Arch Med Res* 2010; 41: 288-94.
- [8] Zhang H, Morgan B, Potter BJ, Ma L, *et al.* Resveratrol improves left ventricular diastolic relaxation in type 2 diabetes by inhibiting oxidative/nitrative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299: H985-94.
- [9] Liu HS, Pan CE, Yang W, Liu XM. Antitumor and immunomodulatory activity of resveratrol on experimentally implanted tumor of H22 in Balb/c mice. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1474-6.
- [10] Inanaga K, Ichiki T, Matsuura H, Miyazaki R, *et al.* Resveratrol attenuates angiotensin II-induced interleukin-6 expression and perivascular fibrosis. *Hypertens Res* 2009; 32: 466-71.

## Anexo 1

- [11] Larrosa M, Tome-Carneiro J, Yanez-Gascon MJ, Alcantara D, *et al.* Preventive oral treatment with resveratrol pro-prodrugs drastically reduce colon inflammation in rodents. *J Med Chem* 2010; 53: 7365-76.
- [12] Li T, Fan GX, Wang W, Li T, Yuan YK. Resveratrol induces apoptosis, influences IL-6 and exerts immunomodulatory effect on mouse lymphocytic leukemia both *in vitro* and *in vivo*. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 1221-31.
- [13] Lee M, Kim S, Kwon OK, Oh SR, *et al.* Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of resveratrol, a polyphenolic stilbene, in a mouse model of allergic asthma. *Int Immunopharmacol* 2009; 9: 418-24.
- [14] Norata GD, Marchesi P, Passamonti S, Pirillo A, *et al.* Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of catechin, caffeic acid and trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice. *Atherosclerosis*. 2007; 191: 265-71.
- [15] Singh NP, Hegde VL, Hofseth LJ, Nagarkatti M, *et al.* Resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) ameliorates experimental allergic encephalomyelitis, primarily via induction of apoptosis in T cells involving activation of aryl hydrocarbon receptor and estrogen receptor. *Mol Pharmacol* 2007; 72: 1508-21.
- [16] Afaq F, Adhami VM, Ahmad N. Prevention of short-term ultraviolet B radiation-mediated damages by resveratrol in SKH-1 hairless mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003; 186: 28-37.
- [17] Ramar M, Manikandan B, Raman T, Priyadarsini A, *et al.* Protective effect of ferulic acid and resveratrol against alloxan-induced diabetes in mice. *Eur J Pharmacol* 2012; 690: 226-35.
- [18] Do GM, Jung UJ, Park HJ, Kwon EY, *et al.* Resveratrol ameliorates diabetes-related metabolic changes via activation of AMP-activated protein kinase and its downstream targets in db/db mice. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56: 1282-91.
- [19] Do GM, Kwon EY, Kim HJ, Jeon SM, *et al.* Long-term effects of resveratrol supplementation on suppression of atherogenic lesion formation and cholesterol synthesis in apo E-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 374: 55-9.

## Anexo 1

- [20] Jeon BT, Jeong EA, Shin HJ, Lee Y, Lee DH, *et al.* Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes* 2012; 61: 1444-54.
- [21] Ara C, Kirimlioglu H, Karabulut AB, Coban S, *et al.* Protective effect of resveratrol against oxidative stress in cholestasis. *J Surg Res.* 2005; 127: 112-7.
- [22] Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M, *et al.* Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 40.
- [23] Kumar P, Padi SS, Naidu PS, Kumar A. Effect of resveratrol on 3- nitropropionic acid-induced biochemical and behavioural changes: possible neuroprotective mechanisms. *Behav Pharmacol* 2006; 17: 485-92.
- [24] Martin AR, Villegas I, Sanchez-Hidalgo M, de la Lastra CA. The effects of resveratrol, a phytoalexin derived from red wines, on chronic inflammation induced in an experimentally induced colitis model. *Br J Pharmacol* 2006; 147: 873-85.
- [25] Larrosa M, Yanez-Gascon MJ, Selma MV, Gonzalez-Sarrias A, *et al.* Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 2211-20.
- [26] Hong SW, Jung KH, Zheng HM, Lee HS, *et al.* The protective effect of resveratrol on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. *Arch Pharm Research* 2010; 33: 601-9.
- [27] Palsamy P, Subramanian S. Ameliorative potential of resveratrol on proinflammatory cytokines, hyperglycemia mediated oxidative stress, and pancreatic beta-cell dysfunction in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *J Cell Physiol* 2010; 224: 423-32.
- [28] Rivera L, Moron R, Zarzuelo A, Galisteo M. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 1053-63.
- [29] Sener G, Topaloglu N, Ozer SA, Ercan F, *et al.* Resveratrol alleviates bleomycin-induced lung injury in rats. *Pulm Pharmacol Ther* 2007; 20: 642-9.
- [30] Tunali-Akbay T, Sehirli O, Ercan F, Sener G. Resveratrol protects against methotrexate-induced hepatic injury in rats. *J Pharm Pharm Sci* 2010; 13: 303-10.

## Anexo 1

- [31] Jin F, Wu Q, Lu YF, Gong QH, *et al.* Neuroprotective effect of resveratrol on 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *Eur J Pharmacol* 2008; 600: 78-82.
- [32] Sengottuvelan M, Deeptha K, Nalini N. Influence of dietary resveratrol on early and late molecular markers of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. *Nutrition* 2009; 25: 1169-76.
- [33] Csiszar A, Labinskyy N, Podlutzky A, Kaminski PM, *et al.* Vasoprotective effects of resveratrol and SIRT1: attenuation of cigarette smoke-induced oxidative stress and proinflammatory phenotypic alterations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H2721-35.
- [34] Csiszar A, Labinskyy N, Olson S, Pinto JT, *et al.* Resveratrol prevents monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Hypertension* 2009; 54: 668-75.
- [35] Dolinsky VW, Chan AY, Robillard Frayne I, Light PE, *et al.* Resveratrol prevents the prohypertrophic effects of oxidative stress on LKB1. *Circulation* 2009; 119: 1643-52.
- [36] Rimbaud S, Ruiz M, Piquereau J, Mateo P, *et al.* Resveratrol improves survival, hemodynamics and energetics in a rat model of hypertension leading to heart failure. *PLoS One* 2011; 6: e26391.
- [37] Akar F, Uludağ O, Aydın A, Aytekin YA, *et al.* High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 2135-41.
- [38] Andersen G, Burkon A, Sulzmaier FJ, Walker JM, *et al.* High dose of dietary resveratrol enhances insulin sensitivity in healthy rats but does not lead to metabolite concentrations effective for SIRT1 expression. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 1197-206.
- [39] Wang Z, Huang Y, Zou J, Cao K, *et al.* Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation *in vivo* and *in vitro*. *Int J Mol Med* 2002; 9: 77-9.



## Anexo 1

**Tabla Suplementaria 1.9.** Efectos neuroprotectores del RES en modelos animales.

Modelo	Modelo Animal	Tratamiento	Efectos y Mecanismos	Referencia
<b>Neurodegenerativo</b>				
Parkinson	Ratones Swiss macho expuestos a paraquat/maneb	10 mg/kg pc/día (ip) / 9 semanas	↑células TH/Neu positivas; ↓ neuronas Fluoro-Jade B positivas; ↑ niveles de dopamina; ↑ expresión de VMAT-2; ↓TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ↓MT-III; ↓p-p53, Bax; ↑expresión de cyp2d22; ↓activación de NF- $\kappa$ B; ↓ASK-1, p38MAPK, HO-1	1
	Ratones transgénicos sobre-expresadores de PGC- $\alpha$ tratados con MPTP	20 mg/kg (ip) / 24h	↑supervivencia de neuronas dopaminérgicas; ↑TH, DAT in SNc; ↑SOD, SOD2, Trx2; PGC- $\alpha$	2
	Ratas Wistar macho inyectados con 6-OHDA	20 mg/kg (po) / 2 semanas	↓comportamiento rotacional; ↑supervivencia de neuronas dopaminérgicas y nigrales; ↓ROS; ↑T-AOC	3
	Ratas Wistar macho inyectados con 6-OHDA	Pretratamiento 20 mg/kg pc/día (ip) / 15 días	↓comportamiento rotacional; ↑coordinación motora; ↓TBARS, PC; ↑GSH; ↑ actividad de Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa; ↑dopamina y DOPAC; ↓unión al receptor DA-D2; ↑TH; ↓COX-2; ↓actividad de PLA2	4
	Sprague–Dawley inyectados con 6-OHDA	10, 20, 40 mg/kg pc/día (po) / 10 semanas	↓comportamiento rotacional; ↓degeneración de neuronas dopaminérgicas; ↓COX-2, TNF- $\alpha$	5
	Ratones Balb/C macho tratados con MPTP	20 mg/kg (iv) / 7 días	↑coordinación motora; ↓rigidez muscular; ↓DHBA; ↓daño neuronal	6
	Ratones C57BL/6 inyectados con MPTP (ip)	Pretratamiento 50 mg/kg pc/día (ig) / 8d; 100 mg/kg pc/día (ig) / 15 días	↑DA estriatal; ↑TH; ↓muerte de neuronas nigrales	7
Isquemia/reperfusión hipoxia/reperfusión	Ratas macho Wistar	30 mg/kg/día (ip) / 7d antes de isquemia	↓Fluoro-Jade B-positive neuronas; ↓ROS, NO, MDA; ↓SOD, GPx; ↑CAT; ↑ actividad de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -ATPasa	8
	Ratas Sprague–Dawley macho	Pretratamiento 2 $\times$ 10 <sup>-3</sup> , 2 $\times$ 10 <sup>-4</sup> , 1 $\times$ 10 <sup>-4</sup> , 2 $\times$ 10 <sup>-5</sup> mg/kg (iv)	↓área de infarto; ↓actividad renal eferente; ↑GRP78, GRP94	9

## Anexo 1

Ratas macho Sprague-Dawley	15, 30 mg/kg (ip) / 7 días antes de cirugía	↑puntuación neurológica; ↓Volumen del infarto; ↓MDA; ↑SOD ;↓Apoptosis (Casp3 , TUNEL); ↑Nrf-2; ↑HO-1	10
Ratas macho Sprague-Dawley	30 mg/kg (ip) / 7 días	↓ puntuación de déficit neurológico; ↓ liberación de lactato; ↑ niveles de glucosa niveles; ↑ATP y EC niveles; ↑adenosina e inosina; ↓hipoxantina y xantina; ↓MDA, actividad de XO	11
Ratones C57BL/6 macho y hembra	1, 2.5, 5 mg/kg (iv) / administradas 3 o 6h después de oclusión arterial	↓volumen del infarto; ↓IL-1β, TNF-α; ↓activación microglial (Iba1); ↓ROS	12
Ratas Sprague–Dawley macho	30 mg/kg (ip) / 7 días antes de isquemia	↓volumen del infarto; ↓ puntuación de déficit neurológico; ↓ liberación de Asp, Glu; ↓ GABA, Gli, Tau;↓ PEA, D-ser	13
Ratas Sprague–Dawley	10-100 mg/kg (ip) / 48 h antes de la inducción de 8 min de paro cardiaco por asfixia	↑número neuronal normal; ↑actividad de SIRT1; ↓UCP2; ↑ratio ADP/O	14
Ratas macho Wistar	10 <sup>-7</sup> g/kg (iv) 2 veces / 15 min pre-oclusión y en el momento de reperusión (2h post-oclusión)	↓LPO, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , G6-PD, LDH; ↑PC, GSH; ↑ATP, MT, HSP70; ↓Apoptosis (liberación de citocromo c); ↓Daño en el ADN; ↓edema cerebral, volumen de infarto; ↓Déficits comportamentales	15
Ratones Balb/c macho	50 mg/kg/día (po) / 7 días	↓Volumen del infarto; ↓ puntuación de déficit neurológico; ↑microvasos; ↑MMP-2, VEGF	16
Ratas Long-Evans macho	0.01, 0.1, 1 µg/kg (iv) / después de 1h de oclusión MCA	↓LDH plasma; ↑NO plasma; ↓iNOS; ↑eNOS; ↓volumen de infarto; ↓MDA	17
Ratas Wistar macho	20 mg/kg (iv) / después de isquemia	↑flujo sanguíneo hipocampal; ↑NO; ↓DHBA; ↓actividad de SOD	18

## Anexo 1

	Ratones Balb/C macho	50 mg/kg (po) / 7 días	↓área de infarto; ↓expresión & actividad de MMP-9	19
	Conejos New Zealand macho	1, 10 mg/kg / 30 min antes de SCI	↑puntuación de Tarlov; ↓daño neuronal; ↓MDA; ↑NO	20
	Ratas Long-Evans	Grupos de pretratamiento /tratamiento $10^{-6}$ , $10^{-7}$ , $10^{-8}$ , $10^{-9}$ g/kg (iv) / 15 min antes de trauma	↓volumen de infarto	21
	Ratas Wistar macho y hembra	90 mg/kg (ip) / después de hipoxia	↑reflejos; ↑coordinación motora; ↑ memoria de referencia; ↓lesiones cerebrales; ↓desmielinización	22
	Ratones neonatales C57BL/6-J macho y hembras	2 µg/kg, 200 µg/kg, 20 mg/kg (ip)	↓casp 3; ↓calpaína; ↓perdida de tejido	23
		100 mg/kg (ip) / después de trauma	↑ actividad locomotora; ↑memoria; ↑supervivencia neuronal	24
	Ratas Wistar macho	pretratadas con 20 mg/kg (ip) / 21 días y sometidas a isquemia focal por oclusión MCA	↓disminución motora; ↓volumen de infarto; ↓MDA; ↑GSH	25
Neuropatología diabética	Diabetes inducida por STZ en ratas Sprague-Dawley macho	10, 20 mg/kg /2 semanas (6 semanas después de inducción)	Mejora en la velocidad de conducción nerviosa; ↓TNF- $\alpha$ , IL-6, COX-2 en el nervio ciático; ↓MDA; ↓activación de NF- $\kappa$ B	26
	Diabetes inducida por STZ en ratas Wistar	10, 20mg/kg pc día (ip) / 30días (1 semana después de inducción)	↑hidrolisis de ATP & ADP; ↓actividad de AchE	27
	Diabetes inducida por STZ en ratas Wistar	10 mg/kg pc/día (ip) / 6 semanas	↓MDA, XO, NO; ↑GSH	28

## Anexo 1

macho

Trastornos relacionados con el alcohol	Crías de rata Long Evans expuestos a etanol	2, 20, 40, 100 mg/kg 2 veces (po) / 24 h (1 h antes de exposición al etanol)	↓Apoptosis (Casp3, TUNEL); ↑supervivencia de células granulares de cerebelo; ↓ROS; ↓niveles de tiol, MDA, 8-isoPGF2 $\alpha$ ; ↑SOD; Nfr-2	29
	Crías de ratas Wistar macho expuestos a etanol	10, 20 mg/kg (po) / 22 días	↑memoria; ↑GSH, SOD, CAT; ↓AChE en córtex y hipocampos; ↓LPO; ↓TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1; ↓Casp3; ↓activación de NF- $\kappa$ B	30
	Ratones de mediana edad C57BL/6N hembra expuestos a etanol	44.2 mg/kg pc/día en combinación con etanol / 6 semanas	↑memoria espacial	31
Alzheimer	Ratas Sprague–Dawley macho tratadas con A $\beta$ i.c.v	100 $\mu$ M/5 $\mu$ l/día (icv) / 7 días	↓acumulación de A $\beta$ en el hipocampo; ↑memoria espacial; ↓iNOS, MDA; ↓muerte neuronal; ↑HO-1	32
	Ratas Wistar macho inyectados con colchicina i.c.v.	10, 20 mg/kg (po) / 25 días empezando 4 días antes de la colchicina	↓MDA, NO $_2$ ; ↑GSH, actividad de AChE	33
	Ratas Sprague Dawley macho tratadas con ácido kainico	30 mg/kg pc/día (ip) / 5 días	↓muerte de neuronas hipocampales; ↓activación de gliales	34
	Ratas Wistar macho	8 mg/kg pc/día en agua / 43-45 días	↓actividad de GAD (muerte neuronal)	35
Lesiones en la espina dorsal	Ratas Sprague Dawley	200 mg/kg 3 veces/día (ip) / 3 días después de la lesión	↑puntuación BBB; ↓daño neuronal; ↑SOD; ↓MDA; ↓TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, MPO; ↓Apoptosis; ↓Bax, Casp3; ↑Bcl-2	36
	Ratas Wistar macho	100 mg/kg (ip) / después de la lesión	↑puntuación de la función motora; ↓área de lesión; ↑GSH; ↓MDA, XO, NO	37
	Ratas Wistar macho	100 mg/kg (ip) / después de la lesión	↓área de lesión; ↑GSH; ↓MDA, XO, NO	38

## Anexo 1

	Ratas Sprague-Dawley	50, 100 mg/kg pc (ip) / después de la lesión	↓edema; ↓MDA; ↓actividad de LDH; ↓daño celular; ↑ actividad de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -ATPasa	39
Enfermedad de Huntington	Ratas Sprague-Dawley macho inyectadas con ácido nitropropiónico	100 mg/kg (ip) / 4 semanas (5 días/semana)	↓velocidad de conducción neuronal; ↓degeneración del nervio ciático	40
	Ratas Wistar inyectadas con ácido nitropropiónico	5, 10 mg/kg pc / día (po) / 8 d empezando 4 días antes del ácido nitropropiónico	↑memoria y puntuación de función; ↑GSH, SQR; ↓MDA, NO	41
Lesión por constricción crónica	Ratas Sprague-Dawley macho	100 mg/kg (ip) post-lesión	↑desempeño motor; ↑memoria visioespacial; ↓volumen de contusiones; ↓perdida de células del hipocampo	42
Esclerosis múltiple	Ratones viejos SJL/J hembra con encefalomiелitis autoinmune experimental	500-1000 mg/kg (po) / 4-6 días	↓daño neuronal óptico; ↓disfunción neuronal; ↓perdida de axones; ↑ activación de SIRT1	43
Fatiga crónica	Ratones viejos BALB/c hembra con inyecciones repetidas de antígenos de <i>Brucella abortus</i>	40 mg/kg pc/día (po) / 4 semanas	↑ejercicio diario; ↑hipocampo/peso corporal; ↑neurogénesis; ↑BDNF; ↓apoptosis (TUNEL); ↓p53 acetilado	44
No relacionado con patologías	Ratones C57BL6	200 mg/kg/día (po), 100 mg/kg/día (sc) / 4 semanas	↑expresión & actividad de MnSOD; ↑ actividad de CAT, GPx	45
	Ratas Wistar macho	1.25-25 mg/kg pc/día (ip) / 7 días	↓MDA; ↑Fe-SOD, CAT, POD	46

6-OHDA, 6-hidroxidopamina; 8-iso-PGF2 $\alpha$ , 8-iso-prostaglandina-F2 $\alpha$ ; AchE, acetilcolinesterasa; ADP, adenosina difosfato; ADP/O, ratio adenosina difosfato-oxígeno; AMPK, proteína quinasa activada por adenosina monofosfato; ASK-1, quinasa reguladora de señales de apoptosis 1; ATP, adenosina trifosfato; A $\beta$ , péptido beta amiloide; Bax, proteína X asociada a Bcl2; BBB, Basso, Beattie y Bresnahan; Bcl-2, linfoma de células B 2; BDNF, factor neurotrópico derivado del cerebro; Casp3, caspasa 3; CAT, catalasa; COX-2, ciclooxigenasa 2; CYP2d22, citocromo P450, familia 2, subfamilia d, polipéptido 22; DA-D2, receptor de dopamina D2; DAT, transportador de dopamina; DHBA, ácido

## Anexo 1

dihidroxibenzoico; DOPAC, ácido 3,4-Dihidroxifenilacético; D-ser, D serina; EC, carga de energía; eNOS, sintasa de óxido nítrico endotelial; FeSOD, superóxido dismutasa de hierro; G6-PD, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; GABA, neurotransmisor gamma- ácido aminobutírico; GAD, glutamato descarboxilasa; Gli, glicina; GPx, glutatona peroxidasa; GRP78, proteína chaperona del retículo endoplásmico 78; GRP94, proteína chaperona del retículo endoplásmico 94; GSH, glutatona; HO-1, heme oxigenasa; HSP70, 70-kDa proteína de choque térmico; Iba1, molécula adaptadora de unión al calcio ionizado 1; icv, intracerebroventricular; ig, intragástrico; IL, interleuquina; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; ip, intraperitoneal; LDH, lactato deshidrogenasa; LPO, lipoperoxidasa; MDA, malondialdehído; MMP, metaloproteínasa de la matriz; MnSOD, superóxido dismutasa de manganeso; MPO, mieloperoxidasa; MT, metalotioneína; N<sub>2</sub>O, óxido nitroso; NF-κB, factor nuclear kappa B; Nrf-2, factor 2 asociado al factor nuclear eritroide 2; NO, óxido nítrico; P38MAPK, proteína quinasas activada por mitógenos 38; p53, proteína tumoral 53; PC, proteína carbonilo; PEA, fosfoproteína enriquecida en astrocitos; PGC-1α, co-activador 1 alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; PLA2, fosfolipasa A2; po, oral; POD, peroxidasa; ROS, especies reactivas de oxígeno; sc, subcutáneo; SIRT1, sirtuína 1; SNc, células nerviosas de la Substantia Nigra; SOD, superóxido dismutasa; SQR, sulfuro quinona reductasa; STZ, estreptozotocina; T-AOC, capacidad antioxidante total; Tau, taurina; TBARS, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; TGF-β1, factor de crecimiento transformador β1; TH, tirosina hidroxilasa; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa; Trx2, tiorredoxina 2; TUNEL, enzima desoxinucleotidil terminal transferasa que incorpora nucleótidos marcados a las fragmentaciones del ADN; UCP2, proteína desacopladora mitocondrial 2; VMAT2, transportador de monoamina vesicular 2; XO, xantina oxidasa. El efecto se indica por ↓: reducción; ↑: inducción; p-: estado de fosforilación.

## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.9.

- [1] Srivastava G, Dixit A, Yadav S, Patel DK, *et al.* Resveratrol potentiates cytochrome P450 2 d22-mediated neuroprotection in maneb- and paraquat-induced parkinsonism in the mouse. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 1294-306.
- [2] Mudò G, Mäkelä J, Di Liberto V, Tselykh TV, *et al.* Transgenic expression and activation of PGC-1 $\alpha$  protect dopaminergic neurons in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Cell Mol Life Sci* 2012; 7: 1153-65.
- [3] Wang Y, Xu H, Fu Q, Ma R, *et al.* Protective effect of resveratrol derived from *Polygonum cuspidatum* and its liposomal form on nigral cells in parkinsonian rats. *J Neurol Sci* 2011; 304: 29-34.
- [4] Khan MM, Ahmad A, Ishrat T, Khan MB, Hoda *et al.* Resveratrol attenuates 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage and dopamine depletion in rat model of Parkinson's disease. *Brain Res* 2010; 1328: 139-51.
- [5] Jin F, Wu Q, Lu YF, Gong QH, Shi JS. Neuroprotective effect of resveratrol on 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *Eur J Pharmacol* 2008; 600: 78-82.
- [6] Lu KT, Ko MC, Chen BY, Huang JC, *et al.* Neuroprotective effects of resveratrol on MPTP-induced neuron loss mediated by free radical scavenging. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 6910-691.
- [7] Blanchet J, Longpré F, Bureau G, Morissette M, *et al.* Resveratrol, a red wine polyphenol, protects dopaminergic neurons in MPTP-treated mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 1243-50.
- [8] Simão F, Matté A, Matté C, Soares FM, *et al.* Resveratrol prevents oxidative stress and inhibition of Na(+)-K(+)-ATPase activity induced by transient global cerebral ischemia in rats. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 921-8.
- [9] Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM. Resveratrol preconditioning induces cellular stress proteins and is mediated via NMDA and estrogen receptors. *Neuroscience* 2010; 166: 445-54.
- [10] Ren J, Fan C, Chen N, Huang J, *et al.* Resveratrol pretreatment attenuates cerebral ischemic injury by upregulating expression of transcription factor Nrf2 and HO-1 in rats. *Neurochem Res* 2011; 36: 2352-62.

## Anexo 1

- [11] Li H, Yan Z, Zhu J, Yang J, He J. Neuroprotective effects of resveratrol on ischemic injury mediated by improving brain energy metabolism and alleviating oxidative stress in rats. *Neuropharmacology* 2011; 60: 252-8.
- [12] Shin JA, Lee H, Lim YK, Koh Y, *et al.* Therapeutic effects of resveratrol during acute periods following experimental ischemic stroke. *J Neuroimmunol* 2010; 227: 93-100.
- [13] Li C, Yan Z, Yang J, Chen H, *et al.* Neuroprotective effects of resveratrol on ischemic injury mediated by modulating the release of neurotransmitter and neuromodulator in rats. *Neurochem Int* 2010; 56: 495-500.
- [14] Della-Morte D, Dave KR, DeFazio RA, Bao YC, *et al.* Resveratrol pretreatment protects rat brain from cerebral ischemic damage via a sirtuin 1-uncoupling protein 2 pathway. *Neuroscience* 2009; 159: 993-1002.
- [15] Yousuf S, Atif F, Ahmad M, Hoda N, *et al.* Resveratrol exerts its neuroprotective effect by modulating mitochondrial dysfunctions and associated cell death during cerebral ischemia. *Brain Res* 2009; 1250: 242-5.
- [16] Dong W, Li N, Gao D, Zhen H, *et al.* Resveratrol attenuates ischemic brain damage in the delayed phase after stroke and induces messenger RNA and protein express for angiogenic factors. *J Vasc Surg* 2008; 48: 709-14.
- [17] Tsai SK, Hung LM, Fu YT, Cheng H, *et al.* Resveratrol neuroprotective effects during focal cerebral ischemia injury via nitric oxide mechanism in rats. *J Vasc Surg* 2007; 46: 346-53.
- [18] Lu KT, Chiou RY, Chen LG, Chen MH, *et al.* Neuroprotective effects of resveratrol on cerebral ischemia-induced neuron loss mediated by free radical scavenging and cerebral blood flow elevation. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 3126-31.
- [19] Gao D, Zhang X, Jiang X, Peng Y, *et al.* Resveratrol reduces the elevated level of MMP-9 induced by cerebral ischemia-reperfusion in mice. *Life Sci* 2006; 78: 2564-70.
- [20] Kiziltepe U, Turan NN, Han U, Ulus AT, *et al.* Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg* 2004; 40: 138-45.
- [21] Huang SS, Tsai MC, Chih CL, Hung LM, *et al.* Resveratrol reduction of infarct size in Long-Evans rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life Sci* 2001; 69: 1057-65.



## Anexo 1

- [22] Karalis F, Soubasi V, Georgiou T, Nakas CT, *et al.* Resveratrol ameliorates hypoxia/ischemia-induced behavioral deficits and brain injury in the neonatal rat brain. *Brain Res* 2011; 1425: 98-110.
- [23] West T, Atzeva M, Holtzman DM. Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. *Dev Neurosci* 2007; 29: 363-72.
- [24] Sönmez U, Sönmez A, Erbil G, Tekmen I, *et al.* Neuroprotective effects of resveratrol against traumatic brain injury in immature rats. *Neurosci Lett* 2007; 420: 133-7.
- [25] Sinha K, Chaudhary G, Gupta YK. Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sci* 2002; 71: 655-65.
- [26] Kumar A, Sharma SS. NF-kappaB inhibitory action of resveratrol: a probable mechanism of neuroprotection in experimental diabetic neuropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394: 360-5.
- [27] Schmatz R, Mazzanti CM, Spanevello R, Stefanello N, *et al.* Ectonucleotidase and acetylcholinesterase activities in synaptosomes from the cerebral cortex of streptozotocin-induced diabetic rats and treated with resveratrol. *Brain Res Bull* 2009; 80: 371-6.
- [28] Ates O, Cayli S, Altinoz E, Gurses I, *et al.* Neuroprotection by resveratrol against traumatic brain injury in rats. *Mol Cell Biochem* 2007; 294: 137-44.
- [29] Kumar A, Singh CK, Lavoie HA, Dipette DJ, *et al.* Resveratrol restores Nrf2 level and prevents ethanol-induced toxic effects in the cerebellum of a rodent model of fetal alcohol spectrum disorders. *Mol Pharmacol* 2011; 80: 446-57.
- [30] Tiwari V, Chopra K. Resveratrol prevents alcohol-induced cognitive deficits and brain damage by blocking inflammatory signaling and cell death cascade in neonatal rat brain. *J Neurochem* 2011; 117: 678-90.
- [31] Ranney A, Petro MS. Resveratrol protects spatial learning in middle-aged C57BL/6 mice from effects of ethanol. *Behav Pharmacol* 2009; 20: 330-6.
- [32] Huang TC, Lu KT, Wo YY, Wu YJ, *et al.* Resveratrol protects rats from A $\beta$ -induced neurotoxicity by the reduction of iNOS expression and lipid peroxidation. *PLoS One* 2011; 6: e29102.
- [33] Kumar A, Naidu PS, Seghal N, Padi SS. Neuroprotective effects of resveratrol against intracerebroventricular colchicine-induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Pharmacology* 2007; 79:17-26.

## Anexo 1

- [34] Wang Q, Yu S, Simonyi A, Rottinghaus G, *et al.* Resveratrol protects against neurotoxicity induced by kainic acid. *Neurochem Res* 2004; 29: 2105-012.
- [35] Virgili M, Contestabile A. Partial neuroprotection of *in vivo* excitotoxic brain damage by chronic administration of the red wine antioxidant agent, trans-resveratrol in rats. *Neurosci Lett* 2000; 281: 123-6.
- [36] Liu C, Shi Z, Fan L, Zhang C, *et al.* Resveratrol improves neuron protection and functional recovery in rat model of spinal cord injury. *Brain Res* 2011; 1374: 100-9.
- [37] Ates O, Cayli S, Altinoz E, Gurses I, *et al.* Effects of resveratrol and methylprednisolone on biochemical, neurobehavioral and histopathological recovery after experimental spinal cord injury. *Acta Pharmacol Sin* 2006; 27: 1317-25.
- [38] Ates O, Cayli SR, Yucel N, Altinoz E, *et al.* Central nervous system protection by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Clin Neurosci* 2007; 14: 256-60.
- [39] Yang YB, Piao YJ. Effects of resveratrol on secondary damages after acute spinal cord injury in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 703-10.
- [40] Binienda ZK, Beaudoin MA, Gough B, Ali SF, *et al.* Assessment of 3-nitropropionic acid-evoked peripheral neuropathy in rats: neuroprotective effects of acetyl-L-carnitine and resveratrol. *Neurosci Lett* 2010; 480: 117-21.
- [41] Kumar P, Padi SS, Naidu PS, Kumar A. Effect of resveratrol on 3-nitropropionic acid-induced biochemical and behavioural changes: possible neuroprotective mechanisms. *Behav Pharmacol* 2006; 17: 485-92.
- [42] Singleton RH, Yan HQ, Fellows-Mayle W, Dixon CE. Resveratrol attenuates behavioral impairments and reduces cortical and hippocampal loss in a rat controlled cortical impact model of traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2010; 27: 1091-9.
- [43] Shindler KS, Ventura E, Dutt M, Elliott P, *et al.* Oral resveratrol reduces neuronal damage in a model of multiple sclerosis. *J Neuroophthalmol* 2010; 30: 328-39.
- [44] Rahvar M, Nikseresht M, Shafiee SM, Naghibalhossaini F, *et al.* Effect of oral resveratrol on the BDNF gene expression in the hippocampus of the rat brain. *Neurochem Res* 2011; 36: 761-5.
- [45] Robb EL, Winkelmoen L, Visanji N, Brotchie J, *et al.* Dietary resveratrol administration increases MnSOD expression and activity in mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 372: 254-9.

## *Anexo 1*

- [46] Mokni M, Elkahoui S, Limam F, Amri M, *et al.* Effect of resveratrol on antioxidant enzyme activities in the brain of healthy rat. *Neurochem Res* 2007; 32: 981-87.

## Anexo 1

**Tabla Suplementaria 1.10.** Efectos anti-envejecimiento del RES en modelos animales.

Modelo Animal	Tratamiento	Efectos y Mecanismos	Referencia
<i>S. cerevisiae</i>	2-5 $\mu$ M / 19h	↑tiempo de vida de replicación (70%)	1
<i>C. elegans</i>	100 $\mu$ M / todo el tiempo de vida	↑tiempo de vida (14%)	2
<i>D. melanogaster</i>		↑tiempo de vida (29%)	
<i>Nothobranchius furzeri</i>	24 $\mu$ g/g pienso; 120 $\mu$ g/g pienso / desde la edad adulta hasta la muerte	↑tiempo de vida medio (33%) y máximo (27%); ↓degradación cognitiva; ↑actividad locomotora; ↓Degeneración neurofibrilar	3
Ratones C57BL/6NIA	0.04% con dieta rica en grasa / desde la edad adulta hasta la muerte	↓riesgo de muerte (31%); ↑capacidad motora; ↑sensibilidad a la insulina; ↑AMPK en el hígado; ↓patología de órganos	4
Ratones C57Bl/6J	200 o 400 mg/kg/día con dieta rica en grasa / 15 semanas	↓grasa corporal; ↑consumo de O <sub>2</sub> ; ↑estructura mitocondrial (tamaño y contenido de ADN); ↑capacidad aeróbica en el musculo; ↑capacidad motora; ↓ actividad de PGC- $\alpha$	5
<i>Nothobranchius guentheri</i>	200 $\mu$ g/g pienso / todo el tiempo de vida	↑20% tiempo de vida medio (23% ♂, 13% ♀); ↓ neuronas Fluoro-Jade B positivas; ↑capacidad cognitiva; ↑actividad locomotora; ↓senescencia (actividad de SA- $\beta$ -Gal); ↓SOD, GPx	6
Ratas Wistar macho de 12 y 21 meses de edad		↓respuesta a la hipersensibilidad; ↑IG, IG1,IG2 $\alpha$	7
Abejas con 4 días	30, o 130 $\mu$ M / desde la edad adulta hasta la muerte	↓respuesta gustativa; ↑tiempo de vida 35%; ↓consumo de comida	8
Ratas Wistar macho	dieta baja (0.0015 mg/kg de pienso) y alta en RES (4 mg/kg) / desde los 12 días hasta la muerte	↓expresión de p53 en el tejido vascular; ↑extensión de los telómeros células de la aorta; ↑ actividad de la telomerasa en células de la aorta	9
Ratones	50 mg/kg / desde los 14 hasta los 30 meses de edad	↑expresión de $\beta$ -catenina en el corazón envejecido; ↑ruta Wnt	10
Ratones <i>knockout</i> SIRT1	25-30 mg/kg (po); 215-235 mg/kg (po) / desde los 14 hasta los 30 meses de edad	↑biogénesis mitocondrial; ↓niveles de glucosa; AMPK/SIRT1	11
Ratones tratados con benzopireno (cáncer de pulmón)	5.7 $\mu$ g/mL en agua	↓senescencia mitocondrial prematura	12
<i>Microcebus murinus</i>	200 mg/kg (po)/ 33 meses	↓glucosa en plasma; ↓insulina; ↓índice HOMA-IR	13
Ratones UM-HET3 (heterogéneos)	50 mg/kg / desde los 4 meses hasta la muerte	↓peso corporal en ♀; ningún efecto en la actividad locomotora	14
<i>Microcebus murinus</i>	200 mg/kg (po)	↑tiempo activo; ↓sueño paradoxical; ↑biogénesis mitocondrial; ↓sueño de onda lenta	15

## Anexo 1

Ratones C57BL/6J	20 mg/kg (ip), 400 mg/kg (po) / 14 semanas	↑cAMP en el musculo esquelético y tejido adiposo; ↑contenido mitocondrial en el musculo	16
Ratas Wistar macho con dieta rica en grasa/sacarosa	50, 100 mg/kg / 14 semanas	↓peso; ↓ senescencia de aorta (SA-β-gal); ↓ROS en aorta; ↓NADPH oxidasa p47phox; ↑SIRT1	17
<i>Drosophila melanogaster</i>	100, 200, 400 μM (po) / todo el tiempo de vida	↑tiempo de vida medio ♀ con dieta rica en grasa; ↑tiempo de vida medio ♀ con dieta rica en proteína; ↑tiempo de vida medio hembras sod1RNAi; ↓dIlp3 & dIlp5; ↓GstD1, HSP68; ↓Prx2540-1 & Prx6005	18
<i>Drosophila melanogaster</i>	25-800 μM (po)	↑peso corporal; ↓contenido lipídico corporal ♀; ↑viabilidad preadulta; ↑longevidad ♀; ↑actividad locomotora ♂; ↑SOD, CAT ♀ & ♂	19
Ratones C57/BL6 de 18 meses	0.05% dieta / 10 meses	↑actividad de MnSOD en el musculo; ↓H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , MDA; ↑función de contractilidad de fibras musculares	20
C57BWrnΔhel/Δhel	0.04% dieta / 9 meses	↓esteatosis del hígado; ↓índice HOMA-IR; ↓daño en el ADN en el tejido cardíaco; ↓MDA (corazón & hígado); ↑carbonilación de proteínas; ↓AMPK-α; ↓expresión de FASN; ↑ ruta del metabolismo del glutatión; ↑glucolisis/gluconeogénesis; ↑metabolismo del piruvato; ↑ruta de señalización de insulina	21
<i>Caenorhabditis elegans</i>	0.5-5 μM	↑tiempo de vida medio; ↑tiempo de vida máximo	22
Ratones B6C3F1	50 mg /kg de dieta / desde los 15 hasta los 30 meses de edad	↓C4, csprs, Pah, Cxcl14, Scap2 en el corazón; ↓c1qa en el cerebelo	23
Ratones híbridos F2 de 4 cruces (CB6F1 x C3D2F1 (C3H x DBA/2) de 3 grupos de edad	14.09 ± 3.35 mg/L en agua / 6-12 meses	↓8-OHdG en hígado y riñón; ↓8-OHdG corazón; ↓8-iso-PGF2α, PCC (en ratones viejos);	24
Ratones C57Bl/6 macho de 1 año de edad	15 mg/kg (po) / 12 meses	↑densidad vascular en el cerebro; ↑función cognitiva; ↓ anormalidades microvasculares	25
Ratones de senescencia acelerada (SAM)	0.2% (w/w) dieta (po) / 13 semanas	↑ capacidad de resistencia; ↓peso corporal; ↑adiponectina, Hb; ↓insulina, TG, glucosa; ↑ consumo de oxígeno; ↑PGC-1β RNA; ↑CYOX III, IV, MCAD	26
Ratones B6C3F(1) macho	1.25 mg/kg (po) / desde los 2 hasta los 5 meses de edad	↑Pdk4, Ucp3	27
Ratones C57BL/6NIA macho	0.04% RES (po) / empezando al año de edad	↑coordinación motora; ↓ disfunción vascular ; ↑ elasticidad aortica; ↓formación de cataratas ↑densidad mineral ósea; ↓degradación funcional; ↓ apoptosis endotelial; ↓TNF-α, IL-1β, IL-6, ICAM-1, iNOS	28

## Anexo 1

Ratones híbridos F1 (C57BL/6×C3H/He) macho	50 mg /kg dieta/ empezando a los 2 y 14 meses hasta los 30 meses de edad	↓disfunción cardíaca; ↓niveles de glucosa; ↓resistencia la insulina; ↑PGC1-α; ↑isoprostanos F2 en el corazón y cerebro	29
---	---	---	----

---

8-iso-PGF2α, 8-iso-prostaglandina-F2α; 8OHdG, 8-Oxo-2'-desoxiguanosina; AMPK, proteína quinasa activada por adenosina monofosfato; C1qa, componente del complemento 1q; C4, componente del complemento 4; cAMP, adenosina monofosfato cíclico; CAT, catalasa; CD4, aglomerado de diferenciación 4; CD8, aglomerado de diferenciación 8; CD25, aglomerado de diferenciación 25; CD69, aglomerado de diferenciación 69; Csprs, componente de Sp100-rs; Cxcl14, ligando de quimioquina (C-X-C) 14; CYOX, citocromo c oxidasa; dILp, péptido relacionado con la insulina; FASN, sintasa de ácidos grasos; GPx, glutatona peroxidasa; GstD1, glutatona S transferasa D1; HSP68, proteína de choque térmico 68; modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; ICAM-1, molécula de adhesión intercelular 1; IFN-γ, interferón gamma; IG, inmunoglobulina; IL, interleuquina; iNOS, sintasa de óxido nítrico inducible; MCAD, acil-CoA deshidrogenasa de cadena media; MDA, malondialdehído; MnSOD, superóxido dismutasa de manganeso; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ; p53, proteína tumoral 53; Pah, fenilalanina hidroxilasa; Pdk4, isoforma 4 de quinasa deshidrogenasa de piruvato; PCC, acetil-CoA carboxilasa; PGC-1β, co-activador 1 beta del receptor activado por proliferadores de peroxisomas; Prx2540-1, peroxirredoxina 2540-1; Prx6005, peroxirredoxina 6005; ROS, especies reactivas de oxígeno; SA-β-Gal, beta-galactosidasa asociada a la senescencia; SIRT1, sirtuína 1; SKAP2, fosfoproteína asociada a la src quinasa 2; SOD, superóxido dismutasa; TBARS, sustancia reactivas al ácido tiobarbitúrico; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa; Ucp3, proteína desacopladora mitocondrial 3. El efecto se indica por ↓: reducción; ↑: inducción; p-: estado de fosforilación.

## Anexo 1

### Referencias para la Tabla Suplementaria 1.10.

- [1] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, *et al.* Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. 2003; 425:191-196.
- [2] Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, *et al.* Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*. 2004; 430:686-689.
- [3] Valenzano DR, Terzibasi E, Genade T, Cattaneo A, *et al.* Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Curr Biol*. 2006; 16:296-300.
- [4] Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, *et al.* Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006; 444:337-342.
- [5] Lagouge M, Armann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, *et al.* Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell*. 2006; 127:1109-1122.
- [6] Yu X, Li G. Effects of resveratrol on longevity, cognitive ability and aging-related histological markers in the annual fish *Nothobranchius guentheri*. *Exp Gerontol* 2012; doi.org/10.1016/j.exger.2012.08.009.
- [7] Yuan J, Lu L, Zhang Z, Zhang S. Dietary intake of resveratrol enhances the adaptive immunity of aged rats. *Rejuvenation Res* 2012; 5.
- [8] Rascón B, Hubbard BP, Sinclair DA, Amdam GV. The lifespan extension effects of resveratrol are conserved in the honey bee and may be driven by a mechanism related to caloric restriction. *Aging (Albany NY)* 2012; 4: 499-508.
- [9] da Luz PL, Tanaka L, Brum PC, Dourado PM, *et al.* Red wine and equivalent oral pharmacological doses of resveratrol delay vascular aging but do not extend life span in rats. *Atherosclerosis* 2012; 224: 136-42.
- [10] Li Q, Hannah SS. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling is downregulated but restored by nutrition interventions in the aged heart in mice. *Arch Gerontol Geriatr* 2012; 55: 749-54.
- [11] Price NL, Gomes AP, Ling AJ, Duarte FV, *et al.* SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metab* 2012; 15: 675-90.
- [12] Malhotra A, Nair P, Dhawan DK. Premature mitochondrial senescence and related ultrastructural changes during lung carcinogenesis modulation by curcumin and resveratrol. *Ultrastruct Pathol* 2012; 36: 179-84.

## Anexo 1

- [13] Marchal J, Blanc S, Epelbaum J, Aujard F, *et al.* Effects of chronic calorie restriction or dietary resveratrol supplementation on insulin sensitivity markers in a primate, *Microcebus murinus*. *PLoS One* 2012; 7: e34289.
- [14] Strong R, Miller RA, Astle CM, Baur JA, *et al.* Evaluation of Resveratrol, Green Tea Extract, Curcumin, Oxaloacetic Acid, and Medium-Chain Triglyceride Oil on Life Span of Genetically Heterogeneous Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012; doi: 10.1093/gerona/gls070.
- [15] Pifferi F, Rahman A, Languille S, Auffret A, *et al.* Effects of dietary resveratrol on the sleep-wake cycle in the non-human primate gray mouse lemur (*Microcebus murinus*). *Chronobiol Int* 2012; 29: 261-70.
- [16] Park SJ, Ahmad F, Philp A, Baar K, *et al.* Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell* 2012; 148: 421-33.
- [17] Tang Y, Xu J, Qu W, Peng X, *et al.* Resveratrol reduces vascular cell senescence through attenuation of oxidative stress by SIRT1/NADPH oxidase-dependent mechanisms. *J Nutr Biochem* 2012; doi:10.1016/j.jnutbio.2011.08.008.
- [18] Wang C, Wheeler CT, Alberico T, Sun X, Seeberger *et al.* The effect of resveratrol on lifespan depends on both gender and dietary nutrient composition in *Drosophila melanogaster*. *Age (Dordr)* 2011; doi: 10.1007/s11357-011-9332-3.
- [19] Chandrashekara KT, Shakarad MN. Aloe vera or resveratrol supplementation in larval diet delays adult aging in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011; 66: 965-71.
- [20] Jackson JR, Ryan MJ, Alway SE. Long-term supplementation with resveratrol alleviates oxidative stress but does not attenuate sarcopenia in aged mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011; 66: 751-64.
- [21] Labbé A, Garand C, Cogger VC, Paquet ER, *et al.* Resveratrol improves insulin resistance hyperglycemia and hepatosteatosis but not hypertriglyceridemia, inflammation, and life span in a mouse model for Werner syndrome. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011; 66: 264-78.
- [22] Zarse K, Schmeisser S, Birringer M, Falk E, *et al.* Differential effects of resveratrol and SRT1720 on lifespan of adult *Caenorhabditis elegans*. *Horm Metab Res* 2010; 42: 837-9.



## Anexo 1

- [23] Park SK, Kim K, Page GP, Allison DB, *et al.* Gene expression profiling of aging in multiple mouse strains: identification of aging biomarkers and impact of dietary antioxidants. *Aging Cell* 2009; 8: 484-95.
- [24] Wong YT, Gruber J, Jenner AM, Ng MP, *et al.* Elevation of oxidative-damage biomarkers during aging in F2 hybrid mice: protection by chronic oral intake of resveratrol. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 799-809.
- [25] Oomen CA, Farkas E, Roman V, van der Beek EM, *et al.* Resveratrol preserves cerebrovascular density and cognitive function in aging mice. *Front Aging Neurosci* 2009; 9: 1-4.
- [26] Murase T, Haramizu S, Ota N, Hase T. Suppression of the aging-associated decline in physical performance by a combination of resveratrol intake and habitual exercise in senescence-accelerated mice. *Biogerontology* 2009; 10: 423-34.
- [27] Barger JL, Kayo T, Pugh TD, Prolla TA, *et al.* Short-term consumption of a resveratrol-containing nutraceutical mixture mimics gene expression of long-term caloric restriction in mouse heart. *Exp Gerontol* 2008; 43: 859-66.
- [28] Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, *et al.* Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab* 2008; 8: 157-68.
- [29] Barger JL, Kayo T, Vann JM, Arias EB, *et al.* A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS One* 2008; 3: e2264.



# **Anexo 2**



**Tabla Suplementaria 6.1.** Lista de genes que cambiaron significativamente (\*) en el grupo GE-RES a los 6 y/o 12 meses pero que, en los grupos placebo y GE, no cambiaron significativamente o no cambiaron (NC) según el criterio de restricción para cambios <-1,2 y > 1,2.

Gen	Cambio en el número de veces en la expresión génica										
	6 meses vs. inicio			12 meses vs. 6 meses			12 meses vs. inicio				
Sonda (Affymetrix)	Símbolo	Numero de acceso	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES	Placebo	GE	GE-RES
7914643	A3GALT2	NM_001080438	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	-1,24	NC	-1,36 *
8076497	A4GALT	NM_017436	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8058914	AAMP	NM_001087	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8019090	AATK	NM_001080395	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	-1,28 *
8131682	ABCB5	NM_178559	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8173629	ABCB7	NM_004299	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *
7946860	ABCC8	NM_000352	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,21 *
7903119	ABCD3	NM_002858	NC	NC	1,25	NC	NC	1,25	NC	NC	1,55 *
8084360	ABCF3	NM_018358	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
8041696	ABCG8	NM_022437	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8040815	ABHD1	NM_032604	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8080162	ABHD14A	NM_015407	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,35 *
8087825	ABHD14B	NM_032750	NC	NC	-1,29	NC	-1,32	NC	-1,21	NC	-1,40 *
8022488	ABHD3	NM_138340	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	NC	NC	1,28 *
7932616	ABI1	NM_005470	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8089145	ABI3BP	NM_015429	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8014487	ACACA	NM_198839	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
7958761	ACAD10	NM_001136538	NC	NC	NC	1,20	NC	1,30 *	1,27	NC	1,30 *
8090715	ACAD11	NM_032169	NC	NC	NC	1,31	NC	1,52 *	1,56	NC	1,55 *
8082444	ACAD9	NM_014049	NC	NC	NC	NC	NC	1,50 *	1,29	NC	1,34 *
7902367	ACADM	NM_000016	NC	NC	1,24	1,27	1,24	NC	1,29	NC	1,46 *
7985786	ACAN	NM_013227	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8092933	ACAP2	NM_012287	NC	NC	1,36 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,39 *
7924701	ACBD3	NM_022735	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,28 *
7932703	ACBD5	NM_145698	NC	NC	NC	1,28	1,23	1,35 *	1,27	1,25	1,32 *
7922656	ACBD6	NM_032360	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,22 *
7955317	ACCN2	NM_020039	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7939494	ACCSL	NM_001031854	NC	NC	NC	NC	-1,33	-1,41 *	NC	NC	-1,22
8002057	ACD	NM_001082486	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	-1,24	-1,29 *
8141648	ACHE	NM_015831	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,23
8066598	ACOT8	NM_005469	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *	NC	NC	NC
8171802	ACOT9	NM_001037171	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8018558	ACOX1	NM_004035	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8099304	ACOX3	NM_003501	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8082673	ACPP	NM_001099	NC	NC	1,33	NC	NC	NC	1,24	1,26	1,51 *
8074153	ACR	NM_001097	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,30
8174474	ACSL4	NM_022977	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	1,31 *
7993737	ACSM2A	NM_001010845	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8112198	ACTBL2	NM_001017992	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,24 *
8141580	ACTL6B	NM_016188	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7974587	ACTR10	NM_018477	NC	-1,29	-1,32	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8042337	ACTR2	NM_001005386	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
7957793	ACTR6	NM_022496	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,47 *	NC	NC	1,21
7949873	ACY3	NM_080658	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,26
7980265	ACYP1	NM_203488	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
8066431	ADA	NM_000022	NC	NC	-1,23	1,32	NC	1,38 *	1,30	NC	NC
7983191	ADAL	NM_001159280	NC	NC	NC	1,24	NC	1,38 *	NC	NC	1,36 *
8007675	ADAM11	NM_002390	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8050190	ADAM17	NM_003183	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,21	1,45 *
8064686	ADAM33	NM_025220	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
8146000	ADAM9	NM_003816	NC	NC	1,43	NC	1,20	NC	NC	1,33	1,60 *
8111387	ADAMTS12	NM_030955	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *
7928147	ADAMTS14	NM_139155	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8104321	ADAMTS16	NM_139056	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8002941	ADAMTS18	NM_199355	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8116272	ADAMTS2	NM_014244	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,26 *
7921821	ADAMTS4	NM_005099	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,25 *
7990736	ADAMTS7	NM_014272	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,38 *
8154512	ADAMTSL1	NM_001040272	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8002904	ADAT1	NM_012091	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8129963	ADAT2	NM_182503	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	NC	1,42 *
8024356	ADAT3	NM_138422	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8127419	ADHSP4	XM_001714398	NC	NC	NC	1,32	1,23	1,26 *	1,28	1,30	NC
8062527	ADIG	NM_001018082	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	NC
8084710	ADIPOQ	NM_004797	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8074063	ADM2	NM_024866	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,25 *
8067011	ADNP	NM_015339	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,23 *
7908907	ADORA1	NM_000674	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	-1,24	NC	-1,36 *

## Anexo 2

8075005	ADORA2A	AK289871	-1,26	-1,22	NC	NC	NC	-1,39 *	-1,32	-1,25	-1,47 *
7990231	ADPGK	NR_023318	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,21	NC	1,31 *	
8053869	ADRA2B	NM_000682	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	
7930627	ADRB1	NM_000684	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,37 *	
8072015	ADRBK2	NM_005160	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,35 *	
8073242	ADSL	NM_000026	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,28 *	
8032576	AES	NM_198969	-1,22	NC	-1,27	NC	NC	-1,22	NC	-1,30 *	
8094030	AFAP1	NM_198595	NC	NC	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	-1,37 *	
7904084	AFARP1	NR_002796	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	
8022342	AFGL2	NM_006796	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	1,23	1,28 *	
7915971	AGBL4	NM_032785	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC	
8048847	AGFG1	NM_001135187	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC	NC	1,20 *	
8134834	AGFG2	NM_006076	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,29	-1,33 *	
8106429	AGGF1	NM_018046	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	1,20 *	
8136614	AGK	NM_018238	NC	NC	-1,32	NC	1,35 *	NC	NC	NC	
8125328	AGPAT1	NM_006411	NC	NC	-1,35	-1,32	-1,33	-1,23	-1,57	-1,32	-1,67 *
8178762	AGPAT1	NM_006411	NC	NC	-1,35	-1,32	-1,33	-1,23	-1,57	-1,32	-1,67 *
8179958	AGPAT1	NM_006411	NC	NC	-1,35	-1,32	-1,33	-1,23	-1,57	-1,32	-1,67 *
8068952	AGPAT3	NM_020132	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC
8096116	AGPAT9	NM_032717	1,21	NC	1,34	NC	NC	NC	NC	1,42 *	
8046604	AGPS	NM_003659	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	1,40 *	
7896822	AGRN	NM_198576	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,22 *	
7924987	AGT	NM_000029	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC	
7925622	AHCTF1	NM_015446	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	
8056220	AHCTF1	NM_015446	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,35 *	
7903803	AHCYL1	NM_006621	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,34 *	
8136095	AHCYL2	NM_015328	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	
7914103	AHDC1	NM_001029882	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	
8175052	AIFM1	NM_001130847	NC	NC	NC	NC	1,42 *	1,22	NC	1,39 *	
8121277	AIM1	NM_001624	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	1,30 *	
8069037	AIRE	NM_000383	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,30 *	
7897227	AJAP1	NM_018836	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,22 *	
7916590	AK2	NM_001625	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	
8013431	AKAP10	NM_007202	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC	
7968835	AKAP11	NM_016248	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	NC	
8035007	AKAP8	NM_005858	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	
8134122	AKAP9	NM_005751	NC	NC	1,22	NC	1,25	1,28	1,22	1,53 *	
8128795	AKD2	NM_001145128	NC	NC	NC	NC	1,31 *	1,22	NC	1,23	
8163569	AKNA	NM_030767	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,26 *	
8038477	AKT1S1	NM_032375	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,28 *	
8081431	ALCAM	NM_001627	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *	
7958784	ALDH2	NM_000690	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,30	1,46 *	
8013384	ALDH3A1	NM_000691	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	
8005638	ALDH3A2	NM_001031806	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	
7921970	ALDH9A1	NM_000696	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	
8162884	ALDOB	NM_000035	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	
8162827	ALG2	NR_024532	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	1,25 *	
8092457	ALG3	NM_005787	NC	NC	NC	-1,24	-1,27	-1,21	NC	-1,24	-1,29 *
7901915	ALG6	NM_013339	NC	NC	NC	NC	1,27 *	1,23	NC	1,37 *	
7980454	ALKBH1	NM_006020	NC	NC	-1,20	NC	1,36 *	NC	NC	NC	
7939477	ALKBH3	NM_139178	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC	
8004784	ALOX15B	NM_001141	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,38 *	
8096919	ALPK1	NM_025144	NC	NC	NC	NC	1,29	1,26	NC	1,55 *	
8049123	ALPP	NM_001632	1,22	1,39	NC	NC	-1,35	-1,46 *	NC	-1,31	
8058295	ALS2	NM_020919	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	
8047577	ALS2CR8	NM_024744	NC	-1,21	NC	1,25	1,24	1,51 *	1,33	NC	1,35
8014230	AMAC1	NM_152462	NC	NC	1,28	-1,39	NC	-1,66 *	NC	NC	-1,29
8020162	AMACIL2	NM_054028	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,21
8004428	AMACIL3	NM_001102614	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
7955797	AMHR2	NM_020547	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7918359	AMIGO1	NM_020703	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,38 *
7962579	AMIGO2	NM_001143668	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC	NC
8055096	AMMECRIL	NM_031445	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
7903414	AMY2A	NM_000699	NC	NC	-1,32	1,26	NC	1,37 *	1,26	NC	NC
7903407	AMY2B	NM_020978	7903407	-1,63	NC	1,63	1,49	1,67 *	1,70	NC	1,51
8043349	ANAPC1	NM_022662	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8053610	ANAPC1	NM_022662	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,21 *
8054614	ANAPC1	NM_022662	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,20 *
8164200	ANGPTL2	NM_012098	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8033892	ANGPTL6	NM_031917	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8011599	ANKFY1	NM_016376	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	1,23	NC	1,36 *
8138370	ANKMY2	NM_020319	NC	NC	NC	1,23	NC	1,47 *	1,34	NC	1,34 *
7972828	ANKRD10	NM_017664	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,34 *
7997907	ANKRD11	NM_013275	-1,38	-1,34	-2,03 *	NC	NC	NC	-1,36	-1,25	-1,99 *
8170322	ANKRD11	NM_013275	-1,38	-1,34	-2,03 *	NC	NC	NC	-1,36	-1,25	-1,99 *
7916928	ANKRD13C	NM_030816	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *	NC	NC	1,21 *
8020349	ANKRD20B	NR_003366	NC	NC	NC	1,36	1,24	1,49 *	1,40	NC	1,44
7932637	ANKRD26	NM_014915	NC	NC	NC	1,23	NC	1,24	1,22	NC	1,31 *
7922121	ANKRD26L1	NR_026844	NC	-1,31	-1,76	1,39	1,41	1,59 *	1,23	NC	NC
8106931	ANKRD32	NM_032290	NC	NC	NC	NC	NC	1,44 *	1,26	NC	1,46 *

7955551	ANKRD33	NM_001130015	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
7985238	ANKRD34C	NM_001146341	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,21	
8053834	ANKRD36B	NM_025190	1,35	NC	NC	1,31	NC	1,53	*	1,78	NC	1,29	
8107992	ANKRD43	NM_175873	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*
8057990	ANKRD44	NM_153697	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,24	*
8152053	ANKRD46	NM_198401	NC	NC	NC	1,21	NC	1,41	*	NC	NC	1,24	*
8102720	ANKRD50	NM_020337	NC	NC	1,33	NC	NC	1,23		NC	NC	1,64	*
8042558	ANKRD53	NM_024933	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8067242	ANKRD60	ENST00000371167	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
7993815	ANKS4B	NM_145865	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,29	*
7957861	ANO4	NM_178826	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8049799	ANO7	NM_001001891	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7982531	ANP32A //	NM_006305	NC	NC	1,20	1,27	NC	NC		NC	NC	1,27	*
7919715	ANP32E	NM_030920	NC	NC	NC	1,21	NC	1,26		1,23	NC	1,42	*
8042468	ANXA4	NM_001153	NC	NC	NC	NC	1,21	1,20		1,33	1,39	1,37	*
8115234	ANXA6	NM_001155	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	
8139033	AOAH	NM_001637	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,28	*
8117081	AOF1	NM_153042	NC	NC	1,22	NC	1,23	1,25		1,23	1,33	1,53	*
8002592	APIG1	NM_001030007	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,23	*
7918703	AP4B1	NM_006594	NC	NC	1,21	NC	NC	1,24		1,31	NC	1,50	*
7983679	AP4E1	NM_007347	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,37	*
7973813	AP4S1	NM_007077	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,31	*	1,21	NC	NC	
8161618	APBA1	NM_001163	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8107330	APC	NM_001127511	NC	NC	1,23	NC	NC	NC		NC	NC	1,42	*
8024306	APC2	NM_005883	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,23	
8067270	APCDD1L	NM_153360	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7939424	API5	NR_024625	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,35	*
8175016	APLN	NM_017413	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
7945182	APLP2	NM_001642	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,31	*
7921834	APOA2	NM_001643	NC	-1,20	-1,43	NC	NC	NC		-1,27	NC	-1,60	*
8073081	APOBEC3F	NM_145298	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,30	*
8029547	APOC4	NM_001646	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8072735	APOL1	NM_145343	NC	NC	NC	1,48	NC	1,50	*	1,39	1,28	1,30	
8075720	APOL2	NM_030882	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	*	NC	NC	1,24	
8075695	APOL3	NM_014349	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	NC	
8072721	APOL5	NM_030642	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8171823	APOO	NM_024122	NC	-1,23	-1,28	1,29	1,29	1,42	*	NC	NC	NC	
8069644	APP	NM_000484	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,23	*
8017235	APPBP2	NM_006380	NC	NC	NC	1,21	NC	1,28	*	1,22	NC	NC	
8160602	APTX	NM_175069	NC	NC	1,23	*	NC	NC		NC	NC	NC	
7942774	AQP11	NM_173039	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,22	*
8049729	AQP12A	NM_198998	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,23	*
8060126	AQP12A	NM_198998	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,20	
7955290	AQP2	NM_000486	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,20	
7955305	AQP6	NM_001652	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8160663	AQP7	NM_001170	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	-1,22	NC	NC	
7994252	AQP8	NM_001169	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7987325	AQR	NM_014691	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	1,26	*
8153322	ARC	NM_015193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,29	
7947784	ARFGAP2	NM_032389	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,25	NC	1,26	*
8063242	ARFGEF2	NM_006420	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,21	*
8042416	ARHGAP25	NM_014882	NC	NC	-1,21	1,22	NC	1,30	*	NC	NC	NC	
7991809	ARHGDI1G	NM_001176	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
7897154	ARHGFE16	NM_014448	NC	NC	NC	NC	NC	NC		-1,22	NC	-1,22	*
8088247	ARHGFE3	NM_001128615	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	
7899220	ARID1A	NM_006015	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,26	*	-1,29	NC	-1,29	*
7902592	ARID3B	NM_006465	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	-1,21	-1,25	*
7974621	ARID4A	NM_002892	NC	NC	NC	1,25	NC	1,31	*	1,35	1,22	1,48	*
8079662	ARIH2	NM_006321	NC	NC	-1,26	1,29	NC	1,43	*	1,22	NC	NC	
8151066	ARMC1	NM_018120	NC	NC	NC	1,36	NC	1,44	*	1,25	NC	1,51	*
8089034	ARMC10	NM_031905	NC	NC	NC	1,40	1,33	1,46	*	1,29	1,41	1,49	*
8135229	ARMC10	NM_031905	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	1,23	1,28	*
7995193	ARMC5	NM_024742	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,28	*
8009755	ARMC7	NM_024585	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC		NC	NC	-1,42	*
8168875	ARMCX3	NM_016607	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,31	NC	1,28	*
8134552	ARPC1B	NM_005720	NC	NC	-1,23	1,22	1,21	1,42	*	1,21	NC	NC	
8077652	ARPC4	NM_005718	NC	NC	NC	1,26	1,23	1,36	*	NC	NC	NC	
7988963	ARPP19	NM_006628	NC	NC	NC	1,23	NC	NC		1,22	1,30	1,21	*
8003903	ARRB2	NM_004313	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25		-1,25	NC	-1,44	*
8112807	ARSB	NM_000046	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,25	*
8115144	ARSI	NM_001012301	NC	NC	1,25	NC	-1,21	-1,50	*	NC	NC	-1,20	
7900878	ARTN	NM_057091	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*
8171867	ARX	NM_139058	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
8049657	ASB1	NM_001040445	NC	1,21	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,23	*
7931863	ASB13	NM_024701	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
8135804	ASB15	NM_080928	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,22	*
8059868	ASB18	NM_212556	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	-1,22	NC	-1,30	*
8052125	ASB3	NM_016115	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	NC	1,22	
8134376	ASB4	NM_016116	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
7986433	ASB7	NM_198243	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,30	*

## Anexo 2

8128472	ASCC3	NM_006828	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
7923317	ASCL5	XM_001719321	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	NC	NC	NC	-1,39	*
8038577	ASPDH	NM_001024656	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
7977203	ASPG	NM_001080464	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,28	*
8150988	ASPH	NM_004318	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7994675	ASPHD1	NM_181718	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*
7940643	ASRGL1	NM_001083926	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	1,33	*
8090664	ASTE1	NM_014065	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,43	*	NC	NC	NC	
8053872	ASTL	NM_001002036	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,28	*
8163678	ASTN2	NM_198186	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,23	*
7934870	ATAD1	NM_032810	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,34	*
8152668	ATAD2	NM_014109	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
8006187	ATAD5	NM_024857	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	
8024712	ATCAY	NM_033064	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,22	
8011732	ATCD1	XM_001715527	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*
8030557	ATF5	NM_012068	NC	NC	NC	NC	-1,28	-1,23		-1,35	NC	-1,34	*
7963698	ATF7	NM_001130059	NC	NC	NC	-1,28	-1,26	-1,45		-1,21	NC	-1,47	*
8113651	ATG12	NM_004707	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	1,23	1,23	*
7981192	ATG2B	NM_018036	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	NC	NC	1,26	
8143803	ATG9B	NM_173681	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8051589	ATL2	NM_022374	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	1,30	NC	1,42	*
7948997	ATL3	NM_015459	-1,22	NC	NC	1,30	NC	1,40	*	NC	NC	1,26	
8092849	ATP13A3	NM_024524	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
8004545	ATP1B2	NM_001678	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,34	*
7958644	ATP2A2	NM_170665	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7965359	ATP2B1	NM_001001323	NC	1,28	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*
7972923	ATP4B	NM_000705	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,24	*
8023063	ATP5A1	NM_001001937	NC	NC	NC	1,25	NC	1,29	*	NC	NC	1,21	
7926084	ATP5C1	NM_001001973	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	
7944216	ATP5L	NM_006476	-1,28	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	
8143221	ATP6V0A4	NM_020632	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8137208	ATP6V0E2	NM_145230	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*
8081740	ATP6V1A	NM_001690	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	1,38	*
8042537	ATP6V1B1	NM_001692	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8144931	ATP6V1B2	NM_001693	NC	NC	NC	1,23	NC	1,22		1,28	NC	1,41	*
8147724	ATP6V1C1	NM_001695	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	NC	1,33	*
7979698	ATP6V1D	NM_015994	NC	1,24	NC	1,25	NC	1,28		1,38	1,43	1,53	*
8150797	ATP6V1H	NM_015941	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	*
8168472	ATP7A	NM_000052	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*
8021365	ATP8B1	NM_005603	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
8091190	ATR	NM_001184	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	1,22	NC	1,37	*
8173673	ATRX	NM_000489	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*
7994386	ATXN2L	NM_007245	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,32	NC	NC	-1,38	*
7980940	ATXN3	NM_004993	NC	NC	NC	1,24	1,20	1,21		1,39	NC	1,30	*
7903676	ATXN7L2	NM_153340	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8015955	ATXN7L3	NM_020218	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
8031700	AURKC	NM_001015878	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8132188	AVL9	NM_015060	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,20	*
8170794	AVPR2	NM_001146151	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,22	
8152222	AZIN1	NM_015878	NC	NC	NC	NC	NC	1,22		NC	NC	1,29	*
7925229	B3GALNT2	NM_152490	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*
8026861	B3GNT3	NM_014256	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,25	*
7959402	B3GNT4	NM_030765	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8037032	B3GNT8	NM_198540	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	-1,21	-1,35	*
7937341	B4GALNT4	NM_178537	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7900931	B4GALT2	NM_003780	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	-1,22	NC	-1,21	*
8110399	B4GALT7	NM_007255	NC	NC	-1,32	*	NC	1,32	*	NC	NC	NC	
7949067	BAD	NM_004322	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,21	*
7981439	BAG5	NM_001015049	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	1,25	1,25	1,24	*
8061122	BANF2	NM_178477	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7917599	BARHL2	NM_020063	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,32	*
7945162	BARX2	NM_003658	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,24	*
8118174	BAT2	NM_080686	NC	NC	-1,23	-1,27	NC	NC	-1,31	NC	NC	-1,45	*
8178011	BAT2	NM_080686	NC	NC	-1,24	-1,28	NC	NC	-1,31	NC	NC	-1,44	*
8158829	BAT2L	NM_013318	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	
8030158	BAX	NM_138764	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8056060	BAZ2B	NM_013450	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	1,26	1,26	1,38	*
8037872	BBC3	NM_001127240	-1,25	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,33	*
7939056	BBOX1	NM_003986	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8001507	BBS2	NM_031885	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*
7984686	BBS4	NM_033028	NC	NC	NC	1,21	NC	1,45	*	1,29	1,24	1,26	
8029489	BCAM	NM_005581	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
7906205	BCAN	NM_021948	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
7931268	BCCIP	NM_016567	NC	NC	1,21	NC	NC	1,23		1,23	NC	1,30	*
8120860	BCKDHB	NM_183050	NC	1,22	NC	NC	NC	1,37	*	NC	NC	1,25	
8071119	BCL2L13	NM_015367	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	
8004255	BCL6B	NM_181844	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	-1,31	*
7952116	BCL9L	NM_182557	NC	NC	-1,31	NC	NC	NC	-1,31	NC	NC	-1,48	*
7976560	BDKRB2	NM_000623	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25		NC	NC	-1,31	*
8106025	BDP1	NM_018429	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*



8177560	BDP1	NM_018429	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,22 *
7996281	BEAN	NM_001136106	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8128620	BEND3	NM_001080450	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
7915598	BEST4	NM_153274	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8170648	BGN	NM_001711	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	-1,22	-1,25 *
8067585	BHLHE23	NM_080606	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,34 *
8162438	BICD2	NM_001003800	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	1,22 *
8074261	BID	NM_197966	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8149707	BIN3	NM_018688	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7943424	BIRC2	NM_001166	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	1,21	NC	1,38 *
8010260	BIRC5	NM_001168	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,21 *
8066195	BLCAP	NM_006698	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,41 *
7935746	BLOC1S2	NM_001001342	NC	1,24	1,26	NC	NC	NC	NC	1,23	1,27 *
8052747	BMP10	NM_014482	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8167642	BMP15	NM_005448	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8096004	BMP2K	NM_198892	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8067185	BMP7	NM_001719	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7915252	BMP8B	NM_001720	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,27 *
7989323	BNIP2	NM_004330	-1,20	NC	NC	1,26	1,25	NC	NC	1,31	1,31 *
8081686	BOC	NM_033254	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8099410	BODIL	NM_148894	NC	NC	NC	1,30	1,21	1,22	1,31	NC	1,43 *
7902072	BPA-1	AB088847	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8083025	BPESC1	NR_026783	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
7966427	BRAP	NM_006768	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	1,21	NC	1,25 *
8015769	BRC1	NM_007296	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	1,20	NC	1,29 *
7968484	BRC2	NM_000059	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,25 *
8171006	BRC3	NM_024332	NC	NC	1,22	1,26	1,24	1,20	1,35	NC	1,46 *
8164995	BRD3	NM_007371	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8110734	BRD9	NM_023924	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *	1,23	NC	NC
8130732	BRP4L	NM_016098	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	1,32 *
8024605	BRUNOL5	NM_021938	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,27 *
8070341	BRWD1	NM_033656	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	1,28
7930996	BRWD2	NM_018117	NC	NC	NC	NC	1,20	1,28 *	1,20	NC	1,23
8173766	BRWD3	NM_153252	1,24	NC	1,24	NC	NC	NC	1,21	NC	1,33 *
7952321	BSX	NM_001098169	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,22
8060988	BTBD3	NM_014962	1,23	1,22	1,25	NC	NC	NC	1,22	1,27	1,40 *
8174051	BTB	NM_000061	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,44 *
8117498	BTN1A1	NM_001732	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *
8117447	BTN2A2	NM_006995	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,27 *
8110620	BTNL3	NM_197975	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8110631	BTNL9	NM_152547	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,23
7951826	BUD13	NM_032725	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8062211	BXDC1	NM_032194	NC	NC	NC	1,29	NC	1,31	1,38	NC	1,37 *
8104825	BXDC2	NM_018321	NC	NC	-1,27	1,24	1,21	1,33 *	NC	NC	NC
8119396	BZRPL1	NM_001010873	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7925813	C10orf108	NR_027152	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,33 *
7932495	C10orf114	NM_001010911	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,27 *
7936419	C10orf118	NM_018017	NC	NC	1,28	1,21	NC	1,28	1,25	1,34 *	
7936706	C10orf119	NM_024834	NC	NC	NC	1,21	NC	1,21	1,20	NC	1,27 *
7936793	C10orf120	NM_001010912	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7937007	C10orf141	NM_001039762	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7925978	C10orf18	NM_017782	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7929901	C10orf2	NM_021830	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	NC
7929719	C10orf28	NM_014472	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,31 *
7932019	C10orf31	ENST00000379256	-1,45	-1,58	-1,87 *	NC	1,28	NC	-1,57	-1,23	-1,80 *
7928064	C10orf35	NM_145306	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7935123	C10orf4	NM_145246	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,26 *
7928695	C10orf58	NM_032333	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7935951	C10orf76	NM_024541	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7936817	C10orf88	NM_024942	NC	NC	NC	1,21	NC	1,28 *	NC	NC	NC
7931473	C10orf91	NM_173541	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7948606	C11orf10	NM_014206	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27
7946428	C11orf16	NM_020643	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7939215	C11orf41	NM_012194	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,27 *
7938078	C11orf42	BC031612	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,25 *
7939087	C11orf46	BC047775	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
7943842	C11orf57	NM_018195	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,20	NC	1,29 *
7952069	C11orf60	NM_020153	NC	-1,29	-1,38	NC	NC	1,42 *	NC	-1,21	NC
7952445	C11orf61	NM_024631	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,38 *
7942783	C11orf67	BC002752	1,25	NC	NC	NC	NC	1,27 *	1,25	NC	NC
7942932	C11orf73	NM_016401	NC	NC	NC	1,33	1,21	1,39 *	1,28	NC	1,21
7941746	C11orf86	ENST00000308963	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7943711	C11orf87	BC068577	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7961964	C12orf11	NM_018164	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,37 *
7957467	C12orf29	NM_001009894	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,32 *
7958577	C12orf34	BC037221	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,34 *
7953211	C12orf5	NM_020375	1,24	NC	NC	NC	NC	1,28	1,46	1,25	1,46 *
7965249	C12orf50	NM_152589	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
7966517	C12orf51	NM_001109662	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,29 *
7960682	C12orf53	AK289648	NC	NC	NC	NC	-1,29	-1,31	-1,22	-1,25	-1,39 *

## Anexo 2

7961820	C12orf67	ENST00000358374	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
7961503	C12orf69	NM_001013698	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
7970139	C13orf11	BC029889	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22
7969374	C13orf34	NM_024808	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28
7970158	C13orf35	ENST00000356049	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
7974725	C14orf100	NM_016475	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28
7980702	C14orf102	NM_017970	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37
7978776	C14orf106	NM_018353	NC	NC	NC	NC	1,40	1,25	1,30	1,31	1,43	1,43	*
7973371	C14orf119	BC009645	NC	-1,24	-1,29	1,21	NC	1,39	*	1,28	NC	NC	NC
7976556	C14orf132	NR_023938	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7978923	C14orf138	NM_024558	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*	1,37	1,24	1,35	*
7980496	C14orf145	NM_152446	NC	NC	NC	1,23	NC	1,34	*	NC	NC	1,38	*
7975989	C14orf156	NM_031210	NC	NC	1,45	1,21	1,22	NC	1,30	1,25	1,55	1,55	*
7974352	C14orf166	NM_016039	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	NC
7977234	C14orf180	NM_001008404	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	-1,20	NC	-1,28	*
7979820	C14orf181	NM_207442	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
7976755	C14orf68	NM_207117	7976755	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
7976778	C14orf70	AK094097	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	NC
7977868	C14orf93	NM_021944	NC	NC	-1,34	*	NC	1,35	*	NC	NC	NC	NC
7981917	C15orf2	NM_018958	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,22	NC
7987180	C15orf29	NM_024713	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	1,24	1,24	*
7986239	C15orf32	BC109252	7986239	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,24	*
7989834	C15orf44	NM_030800	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	1,24	*
7986767	C15orf49	BC069077	7986767	NC	NC	NC	-1,23	-1,21	*	NC	-1,24	NC	NC
7987472	C15orf56	AK095915	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,23	*
7985959	C15orf58	NM_001013657	NC	-1,27	NC	NC	NC	1,32	*	NC	-1,25	NC	NC
7982810	C15orf62	NM_001130448	7982810	NC	NC	-1,29	-1,23	NC	NC	-1,21	NC	-1,28	*
7991893	C16orf11	BC016613	7991893	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,20	NC
7998251	C16orf13	NM_032366	7998251	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*
7998538	C16orf38	NM_001013658	7998538	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,22	NC
8002706	C16orf47	AK129695	8002706	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7999160	C16orf5	NM_013399	7999160	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,39	*	-1,26	NC	-1,49
7994655	C16orf53	NM_024516	7994655	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	NC
8000702	C16orf54	NM_175900	8000702	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,20	NC	-1,35	*
8003601	C16orf54	NM_175900	8003601	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,20	NC	-1,35	*
7996174	C16orf57	NM_024598	7996174	NC	NC	NC	-1,23	-1,28	-1,37	*	-1,38	-1,32	-1,41
7992614	C16orf59	NM_025108	7992614	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
7993680	C16orf62	BC050464	7993680	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*
7999718	C16orf63	AY507846	7999718	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	1,26	*
7996651	C16orf86	NM_001012984	7996651	-1,25	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,22	NC
7999903	C16orf88	BC117562	7999903	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	1,37	*
7999291	C16orf89	NM_152459	7999291	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,23	*
7994730	C16orf92	NM_001109660	7994730	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,24	*
8014169	C17orf102	NM_207454	8014169	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,31	*
8018264	C17orf28	NM_030630	8018264	-1,28	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,28	-1,37	*
8019170	C17orf55	BC108932	8019170	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	-1,23	-1,35	*
8013776	C17orf63	NM_018182	8013776	NC	NC	NC	-1,31	-1,33	-1,40	*	-1,25	-1,32	-1,43
8008914	C17orf64	NM_181707	8008914	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
8008980	C17orf82	BC046200	8008980	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	NC
8007548	C17orf88	NR_026770	8007548	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	-1,26	-1,25	*
8019238	C17orf90	BC090923	8019238	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*
8010086	C17orf95	NM_001080510	8010086	NC	NC	NC	1,24	NC	1,31	*	1,25	NC	NC
8022404	C18orf19	NM_001098801	8022404	NC	-1,21	-1,29	1,21	NC	1,44	*	1,35	NC	NC
8020919	C18orf21	NM_031446	8020919	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	1,26	*
8023864	C18orf51	NM_001044369	8023864	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8021716	C18orf55	NM_014177	8021716	NC	NC	NC	1,25	NC	1,37	*	1,31	NC	1,52
8024013	C19orf21	BC052236	8024013	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
8024246	C19orf24	NM_017914	8024246	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8032197	C19orf26	NM_152769	8032197	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,36	*
8024682	C19orf29	NM_021231	8024682	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
8024888	C19orf30	NR_027148	8024888	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
8032375	C19orf34	NM_152771	8032375	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,31	*
8024373	C19orf36	NM_001039846	8024373	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
8035193	C19orf42	NM_024104	8035193	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,24	NC	1,22	*
8039362	C19orf51	NM_178837	8039362	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8025783	C19orf52	BC011833	8025783	NC	NC	NC	1,21	1,21	1,27	*	1,20	NC	NC
8036956	C19orf54	NM_198476	8036956	NC	NC	NC	-1,23	-1,21	-1,36	*	NC	NC	-1,32
8028016	C19orf55	NM_001039887	8028016	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*
8034747	C19orf67	ENST00000343945	8034747	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
8174820	CIGAL11C1	NM_152692	8174820	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,36	*
7914898	C1orf113	NM_024676	7914898	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
7923958	C1orf116	NM_023938	7923958	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*
7916262	C1orf123	BC010908	7916262	NC	NC	-1,28	1,24	NC	1,33	*	1,29	NC	NC
7898967	C1orf130	NM_001010980	7898967	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
7897966	C1orf158	BC029894	7897966	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,21	NC
7916219	C1orf163	BC015313	7916219	NC	NC	NC	NC	1,39	*	1,25	1,22	1,26	NC
7914003	C1orf172	NM_152365	7914003	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
7901634	C1orf175	NR_026782	7901634	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
7917251	C1orf180	NR_027379	7917251	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
7897737	C1orf187	NM_198545	7897737	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42	*

7901611	<i>C1orf191</i>	ENST00000361350	-1,24	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,22
7918294	<i>C1orf194</i>	NM_001122961	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7925561	<i>C1orf199</i>	NR_026778	1,22	1,29	1,35	NC	NC	1,21	1,31	NC	1,63 *
7920707	<i>C1orf2</i>	NM_006589	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,21	NC	NC	-1,25 *
7898858	<i>C1orf213</i>	NM_138479	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7905464	<i>C1orf230</i>	NM_001144956	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
7908330	<i>C1orf27</i>	AY854248	NC	NC	NC	1,28	1,27	1,25	1,34	1,22	1,49 *
7910630	<i>C1orf31</i>	BC116455	NC	1,27	1,26	1,22	NC	NC	1,24	1,30	1,49 *
7900597	<i>C1orf50</i>	NM_024097	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,22	NC	NC
7917331	<i>C1orf52</i>	NR_024113	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,27 *
7905324	<i>C1orf56</i>	BC002469	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7905512	<i>C1orf68</i>	NM_001024679	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7911138	<i>C1orf71</i>	NM_152609	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
7905589	<i>C1orf77</i>	AF261137	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
7901592	<i>C1orf83</i>	NM_153035	NC	NC	NC	1,24	NC	1,31	1,34	NC	1,35 *
7906284	<i>C1orf92</i>	NM_144702	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,24 *
7897119	<i>C1orf93</i>	AF425266	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8016155	<i>C1QL1</i>	NM_006688	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,21 *
7932308	<i>C1QL3</i>	NM_001010908	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,38 *
7963061	<i>C1QL4</i>	NM_001008223	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,38 *
8010287	<i>C1QTNF1</i>	NM_030968	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,26 *
7947928	<i>C1QTNF4</i>	NM_031909	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7952243	<i>C1QTNF5</i>	NM_015645	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,24
7998407	<i>C1QTNF8</i>	NM_207419	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,27 *
8061894	<i>C20orf114</i>	NM_033197	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8066754	<i>C20orf123</i>	NM_080721	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,26
8061944	<i>C20orf134</i>	NM_001024675	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8067506	<i>C20orf151</i>	AK290299	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8062237	<i>C20orf152</i>	NM_080834	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8063914	<i>C20orf166</i>	NM_178463	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8063755	<i>C20orf177</i>	BC054002	NC	NC	-1,30	NC	NC	1,34 *	NC	NC	NC
8067754	<i>C20orf181</i>	U63828	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8061815	<i>C20orf185</i>	NM_182658	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	NC
8064637	<i>C20orf194</i>	NM_001009984	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8063509	<i>C20orf43</i>	NM_016407	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8064415	<i>C20orf46</i>	ENST00000381894	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,39 *
8064388	<i>C20orf54</i>	NM_033409	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8066411	<i>C20orf62</i>	ENST00000372910	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,21
8061129	<i>C20orf72</i>	BC016869	NC	NC	NC	1,25	NC	1,46 *	1,27	NC	1,46 *
8068894	<i>C21orf125</i>	NR_026960	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	-1,32 *
8070482	<i>C21orf129</i>	NR_027272	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,21
8069083	<i>C21orf2</i>	AB209578	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *
8069131	<i>C21orf30</i>	AL117578	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8069026	<i>C21orf33</i>	NM_004649	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,20	NC	NC
8070386	<i>C21orf87</i>	AF426265	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,27 *
8069574	<i>C21orf91</i>	NM_001100420	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	NC	NC	NC
8070896	<i>C21orf93</i>	AF427488	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,27 *
8075585	<i>C22orf28</i>	NM_014306	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8075016	<i>C22orf36</i>	NM_207644	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,21
8071134	<i>C22orf37</i>	AK097861	NC	-1,21	-1,46	NC	NC	NC	NC	-1,25	-1,55 *
8070538	<i>C2CD2</i>	NM_015500	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7950332	<i>C2CD3</i>	BC035599	NC	-1,23	-1,26	NC	NC	1,39 *	NC	NC	NC
8055291	<i>C2orf27B</i>	BC043584	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,36 *
8053288	<i>C2orf3</i>	NM_003203	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,21	NC	NC
8043407	<i>C2orf31</i>	NM_152670	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8041495	<i>C2orf36</i>	NM_144736	NC	NC	NC	1,28	NC	1,35 *	1,31	NC	1,47 *
8049079	<i>C2orf57</i>	BC024251	NC	-1,24	1,25	NC	1,23	-1,26 *	NC	NC	NC
8048272	<i>C2orf62</i>	BC052750	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,24
8057954	<i>C2orf66</i>	AY358249	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8049239	<i>C2orf82</i>	AY358535	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,26 *
8049952	<i>C2orf85</i>	NM_173821	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
8089584	<i>C3orf17</i>	NM_015412	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,22 *
8090388	<i>C3orf22</i>	BC032025	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,25
8090485	<i>C3orf27</i>	NM_007354	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8081822	<i>C3orf30</i>	BC130475	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8081073	<i>C3orf38</i>	NM_173824	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8086462	<i>C3orf39</i>	NM_032806	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8093137	<i>C3orf43</i>	NM_001077657	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8082347	<i>C3orf56</i>	BC137154	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,23 *
8083223	<i>C3orf58</i>	NM_173552	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
8087374	<i>C3orf62</i>	NM_198562	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	1,24	NC	1,28
8088680	<i>C3orf64</i>	NM_173654	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8092520	<i>C3orf70</i>	NM_001025266	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *
8102389	<i>C4orf21</i>	BC044799	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	1,37	NC	1,50 *
8103684	<i>C4orf27</i>	NM_017867	NC	NC	NC	1,22	NC	1,42 *	NC	NC	1,30
8098150	<i>C4orf43</i>	NM_018352	NC	NC	NC	1,21	NC	1,40 *	NC	NC	1,34 *
8093872	<i>C4orf6</i>	NM_005750	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,26
8114138	<i>C5orf15</i>	NM_020199	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8104680	<i>C5orf22</i>	NM_018356	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,24	NC	NC
8107321	<i>C5orf26</i>	AB048207	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	1,28 *

## Anexo 2

8111552	C5orf33	NM_001085411	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,32	*		
8112709	C5orf37	NM_001099271	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,28	NC	NC		
8112302	C5orf43	NM_001048249	NC	NC	NC	NC	1,21	1,23	1,48	*	NC	1,30	1,37	*
8105647	C5orf44	NM_001093755	NC	NC	NC	NC	1,28	1,26	1,30	*	1,20	1,24	1,39	*
8116335	C5orf45	NM_016175	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,39	*	1,32	NC	1,22	
8108475	C5orf53	NM_001007189	1,31	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
8122336	C6orf115	NM_021243	NC	NC	1,30	1,27	1,26	NC	NC	NC	1,28	1,46	*	
8130934	C6orf122	NR_026781	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	NC		
8123405	C6orf123	AB016901	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC		
8118990	C6orf126	NM_207409	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC		
8126259	C6orf130	AJ420538	NC	NC	NC	NC	1,31	1,21	1,38	*	1,23	1,21	1,38	*
8124859	C6orf15	NM_014070	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,34	*
8178439	C6orf15	NM_014070	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,34	*
8179713	C6orf15	NM_014070	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,32	*
8127534	C6orf150	NM_138441	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*	NC	NC	1,50	*
8119661	C6orf153	BC011933	-1,24	-1,25	-1,26	NC	1,27	1,29	*	NC	NC	NC		
8121002	C6orf162	NM_001042493	1,25	NC	1,22	NC	1,25	1,22	1,48	1,25	1,49	*		
8123579	C6orf195	NM_152554	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
8129193	C6orf204	NM_001042475	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	1,26	*	
8123488	C6orf208	NR_026780	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,24	*
8122818	C6orf211	NM_024573	NC	NC	-1,32	1,32	NC	1,52	*	1,26	NC	NC		
8120675	C6orf221	NM_001017361	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8125072	C6orf27	NM_025258	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,35	*
8123884	C6orf52	NM_001145020	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8124273	C6orf62	NM_030939	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8126147	C6orf64	BC022007	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	
8123467	C6orf70	NM_018341	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	1,36	NC	1,40	*	
8136832	C7orf34	NM_178829	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	
8131881	C7orf46	NM_199136	NC	NC	NC	1,26	NC	1,35	*	1,27	1,29	1,28	*	
8143065	C7orf49	NR_024185	NC	NC	NC	1,24	NC	1,40	*	NC	NC	1,22		
8134827	C7orf51	ENST00000300179	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,23	*	
8141669	C7orf52	NM_198571	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,23		
8132715	C7orf57	NM_001100159	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC		
8142415	C7orf60	NM_152556	NC	NC	-1,28	NC	NC	1,28	*	1,22	NC	NC		
8159491	C8G	NM_000606	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	-1,30	*	
8146711	C8orf44	BC014448	1,24	NC	1,21	1,24	NC	1,35	1,53	NC	1,64	*		
8151587	C8orf59	NM_001099670	NC	1,27	1,29	1,28	NC	NC	1,26	1,46	1,45	*		
8153426	C8orf73	NM_001100878	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,37	*	
8144577	C8orf74	NM_001040032	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC		
8152742	C8orf78	AK057332	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,26	*	
8153868	C8orf82	BC073936	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	
8161026	C9orf100	NM_032818	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	
8156581	C9orf102	NM_001010895	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	
8160036	C9orf123	NM_033428	NC	NC	-1,46	*	1,22	1,22	1,40	*	NC	NC	NC	
8164131	C9orf126	NM_173690	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	1,24		
8159624	C9orf169	BC052297	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,30	*	
8165639	C9orf169	BC052297	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,29	*	
8160792	C9orf24	NM_032596	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC		
8160805	C9orf25	NM_147202	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	
8163666	C9orf27	AB021923	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC		
8156569	C9orf3	AF043897	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	-1,23	-1,23		
8163892	C9orf31	AF220263	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,22	*	
8163109	C9orf4	NM_014334	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC		
8159984	C9orf46	AF225420	NC	1,21	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	1,21		
8164562	C9orf50	NM_199350	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
8160531	C9orf72	NM_018325	NC	NC	NC	1,23	1,53	1,33	NC	1,36	1,44	*		
8165478	C9orf75	NM_173691	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,34	*	
8156247	C9orf79	NM_178828	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,24	*	
8163428	C9orf80	BC014881	NC	1,23	NC	NC	NC	1,21	1,26	1,22	1,36	*		
8160478	C9orf82	BC071953	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,25	NC	1,24	*		
8159017	C9orf96	NM_153710	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,21		
8162676	C9orf97	NM_139246	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,26	*		
7996331	CA7	NM_005182	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC		
8155083	CA9	NM_001216	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	
8048980	CAB39	NM_016289	NC	NC	NC	1,27	NC	1,21	*	NC	NC	NC		
7910164	CABC1	NM_020247	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,41	*	NC	NC	NC		
7959195	CABP1	NM_001033677	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,23		
7923271	CACNA1S	NM_000069	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	-1,20	*	
8009343	CACNG1	NM_000727	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC		
8075820	CACNG2	NM_006078	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC		
8009326	CACNG5	NM_145811	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC		
8031076	CACNG7	NM_031896	NC	NC	NC	NC	NC	-1,49	*	NC	NC	-1,32	*	
8031084	CACNG8	NM_031895	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,33	*	
8052010	CALM2	NM_001743	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	
8135955	CALU	NM_001219	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	1,36	1,50	*		
8102415	CAMK2D	NM_001221	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	
8092468	CAMK2N2	NM_033259	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,29	*	
8011774	CAMTA2	NM_015099	NC	NC	NC	-1,31	-1,27	NC	NC	-1,24	-1,22	-1,39	*	
7956910	CAND1	NM_018448	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	1,24	*	
7983054	CAPN3	NM_212464	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,27	*		

8174527	CAPN6	NM_014289	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
7939242	CAPRINI	NM_005898	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,23	*	
8010379	CARD14	NM_024110	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
7970084	CARKD	NM_018210	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	NC	
7972810	CARS2	NM_024537	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,44	*	1,25	NC	1,37	*	
7998724	CASKINI	NM_020764	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	-1,25	*
8018379	CASKIN2	NM_020753	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	NC	-1,25	*
7951397	CASP1	NM_033292	NC	NC	NC	1,34	1,34	1,39	*	1,40	1,23	1,63	*		
8102311	CASP6	NM_001226	NC	NC	NC	NC	NC	1,46	*	1,23	NC	1,23			
8082046	CASR	NM_000388	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,25	*	
7899124	CATSPER4	NM_198137	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC		
8077503	CAV3	NM_033337	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	-1,22	NC	NC	NC		
8003425	CBFA2T3	NM_005187	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	-1,28	*	
7996393	CBFB	NM_001755	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,27	*	
8070632	CBS	NM_000071	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	NC		
8159815	CBWD1	NM_001145355	NC	NC	NC	1,22	1,22	NC	NC	NC	NC	1,31	*		
8155422	CBWD3	NM_201453	-1,23	NC	NC	1,34	1,32	1,35	*	NC	NC	1,39	*		
8155636	CBWD3	NM_201453	NC	NC	NC	1,28	1,23	1,24	*	NC	NC	1,35	*		
8161537	CBWD3	NM_201453	NC	NC	NC	1,30	1,21	NC	NC	NC	NC	1,33	*		
8161587	CBWD3	NM_201453	NC	NC	NC	1,30	1,24	1,23	*	NC	NC	1,36	*		
8161575	CBWD5	NM_001024916	NC	NC	NC	1,24	NC	1,33	*	NC	1,24	1,54	*		
8076176	CBX6	NM_014292	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*		
8076185	CBX7	NM_175709	NC	NC	-1,36	NC	NC	NC	NC	-1,33	-1,24	-1,49	*		
8026390	CCDC105	NM_173482	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC		
8031526	CCDC106	NM_013301	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,21	*		
8071554	CCDC116	NM_152612	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC		
8086698	CCDC12	NM_144716	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	1,32	1,22	*		
8167430	CCDC120	NM_033626	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	-1,25	NC	-1,35	*		
8110678	CCDC127	NM_145265	NC	NC	NC	1,21	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC		
8134219	CCDC132	NM_017667	NC	NC	NC	1,36	NC	1,41	*	1,21	NC	1,49	*		
8099670	CCDC149	NM_001130726	NC	NC	1,37	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,45	*		
7944913	CCDC15	NM_025004	NC	-1,25	-1,20	1,23	NC	1,39	*	NC	-1,22	NC	NC		
7998494	CCDC154	NM_001143980	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC		
7903049	CCDC18	NM_206886	NC	NC	NC	1,44	1,35	1,33	*	1,31	NC	1,50	*		
7899134	CCDC21	NM_022778	NC	NC	NC	NC	1,22	1,32	*	1,23	NC	1,37	*		
7897196	CCDC27	NM_152492	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,23	*		
7899719	CCDC28B	NM_024296	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*		
7965486	CCDC41	NM_016122	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,39	1,24	1,35	*		
8009255	CCDC45	NM_138363	NC	NC	NC	NC	NC	1,23		1,22	NC	1,35	*		
8017421	CCDC47	NM_020198	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	1,22	1,42	*		
8082465	CCDC48	NM_024768	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*		
8014738	CCDC49	NM_017748	1,22	NC	NC	NC	NC	NC		1,29	NC	1,28	*		
8084818	CCDC50	NM_178335	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*		
8006112	CCDC55	NM_032141	NC	NC	NC	1,31	NC	NC	NC	1,34	NC	1,31	*		
7969222	CCDC70	NM_031290	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,21			
7952914	CCDC77	NM_032358	NC	NC	NC	NC	NC	1,23		NC	NC	1,41	*		
7998307	CCDC78	NM_001031737	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,24	*		
8052376	CCDC85A	NM_001080433	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		NC	NC	-1,25	*		
7981266	CCDC85C	NM_001144995	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		-1,22	NC	-1,31	*		
8052269	CCDC88A	NM_001135597	NC	NC	1,36	NC	1,27	NC	NC	1,33	1,54	*			
7950753	CCDC90B	NM_021825	NC	NC	NC	1,21	NC	1,36	*	1,28	1,25	1,49	*		
7967486	CCDC92	NM_025140	NC	NC	-1,25	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*		
8054804	CCDC93	NM_019044	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,37	*		
8029050	CCDC97	NM_052848	NC	NC	-1,42	-1,37	NC	-1,35	*	-1,34	-1,34	-1,58	*		
8006445	CCL11	NM_002986	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	-1,21	NC	NC		
7996034	CCL17	NM_002987	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC		
7996022	CCL22	NM_002990	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,30	*	-1,24	NC	-1,24	*		
8140358	CCL26	NM_006072	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,22	*		
8014369	CCL3	NM_002983	-2,31	-1,53	-5,28	*	-1,28	-2,23	NC	-2,96	-3,41	-5,93	*		
8014391	CCL3L1	NM_021006	-2,17	-1,64	-4,18	*	-1,23	-1,92	NC	-2,66	-3,15	-4,65	*		
8014414	CCL3L1	NM_021006	-2,17	-1,64	-4,18	*	-1,23	-1,92	NC	-2,66	-3,15	-4,65	*		
8019731	CCL3L1	NM_021006	-2,17	-1,64	-4,18	*	-1,23	-1,92	NC	-2,66	-3,15	-4,65	*		
8105828	CCNB1	NM_031966	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	NC		
8128429	CCNC	NM_005190	-1,25	NC	NC	1,25	1,27	1,27	*	NC	NC	NC	NC		
7942123	CCND1	NM_053056	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*		
8112072	CCNO	NM_021147	NC	NC	NC	NC	NC	-1,44	*	NC	NC	-1,21			
7962831	CCNT1	NM_001240	NC	NC	NC	1,26	NC	1,36	*	NC	NC	NC	NC		
8045381	CCNT2	NM_058241	NC	NC	NC	NC	NC	1,20		1,20	NC	1,22	*		
7989037	CCPG1	NM_004748	NC	NC	NC	1,33	1,41	1,40	*	NC	1,21	1,35			
8162194	CCRK	NM_178432	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	-1,23	*		
7957052	CCT2	NM_006431	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*		
8104449	CCT5	NM_012073	NC	NC	NC	1,22	NC	1,26		1,32	NC	1,36	*		
8069753	CCT8	NM_006585	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,27	1,30	*		
8137468	CCT8L1	ENST00000021776	-1,30	-1,25	1,20	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC		
8114612	CD14	NM_000591	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*		
7984743	CD276	NM_001024736	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*		
8120102	CD24P	NM_012120	NC	NC	NC	1,29	1,24	1,20		1,29	NC	1,26	*		
8007537	CD300LG	NM_145273	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	-1,26	-1,26	*		
7944179	CD3E	NM_000733	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,37	*		
7909400	CD46	NM_002389	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*		

## Anexo 2

8089299	CD47	NM_001777	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,21	*	
7963911	CD63	NM_001780	NC	1,32	1,37	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	
8019478	CD7	NM_006137	NC	NC	-1,30	-1,27	-1,26	-1,22	-1,42	NC	-1,59	*	
7937802	CD81	NM_004356	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,33	-1,39	*	
7969096	CDADCI	NM_030911	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	
8132803	CDC14C	NR_003595	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,51	*	NC	-1,29	*	
8114396	CDC23	NM_004661	NC	NC	NC	1,28	NC	1,24	1,26	NC	1,30	*	
8142878	CDC26	NM_139286	NC	1,23	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	1,41	*	
8016324	CDC27	NM_001114091	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	1,23	*	
8121461	CDC40	NM_015891	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	1,23	1,28	1,41	*	
7981387	CDC42BPB	NM_006035	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	
8039273	CDC42EP5	NM_145057	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	
8120022	CDC5L	NM_001253	NC	NC	NC	1,23	1,20	1,29	*	1,29	1,34	*	
8007071	CDC6	NM_001254	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,31	*	
7916384	CDCP2	NM_201546	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC		
7997880	CDH15	NM_004933	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC		
8001898	CDH16	NM_004062	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC		
8066683	CDH22	NM_021248	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	-1,38	*	
8104663	CDH6	NM_004932	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC		
7997982	CDK10	NM_052988	NC	NC	NC	1,25	NC	1,30	*	NC	1,24	*	
7949836	CDK2AP2	NM_005851	NC	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	
8048460	CDK5R2	NM_003936	NC	NC	NC	NC	1,21	-1,23	NC	NC	-1,23	*	
8163733	CDK5RAP2	NM_018249	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	1,29	*	
8008074	CDK5RAP3	NM_176096	NC	NC	NC	1,45	1,38	1,53	*	1,47	1,25	1,70	*
8140955	CDK6	NM_001259	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	1,36	*	
7954029	CDKN1B	NM_004064	NC	NC	NC	1,32	1,22	1,31	*	NC	1,24	1,23	
8000236	CDR2	NM_001802	-1,24	NC	NC	1,32	NC	1,37	*	NC	NC		
8124862	CDSN	NM_001264	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,27	*
8178442	CDSN	NM_001264	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,31	*
8179716	CDSN	NM_001264	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,24	
8029446	CEACAM19	NM_001127893	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,22	
7898176	CELA2A	NM_033440	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	-1,20	NC	-1,22	
8158987	CELP	NR_001275	NC	NC	NC	NC	NC	-1,53	*	NC	NC	-1,33	
8087145	CELSR3	NM_001407	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,23	NC	-1,30	*	
7945536	CEND1	NM_016564	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,31	*	
8102076	CENPE	NM_001813	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,25	*	
7997381	CENPN	NM_001100624	NC	NC	-1,22	1,21	1,24	1,39	*	NC	NC	NC	
8040578	CENPO	NM_024322	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	NC	1,22	
8157534	CEP110	NM_007018	NC	NC	NC	1,34	1,30	1,32	*	1,34	NC	1,39	*
8113733	CEP120	NM_153223	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,22	*	
8095187	CEP135	NM_025009	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	1,36	NC	1,41	*	
7965264	CEP290	NM_025114	NC	NC	NC	1,34	NC	1,39	*	1,46	NC	1,44	*
7907790	CEP350	NM_014810	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	
8076792	CERK	NM_022766	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	NC	NC	
7996361	CESS3	NM_024922	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
8135661	CFTR	NM_000492	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8128001	CGA	NM_000735	NC	1,21	1,25	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	NC	
8038280	CGB	NM_000737	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,28	*
8038288	CGB1	NM_033377	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	-1,28	*
8030181	CGB2	NM_033378	NC	NC	NC	NC	NC	-1,49	*	NC	NC	-1,28	*
8030187	CGB5	NM_033043	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,21	*
8038292	CGB5	NM_033043	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,21	
8038299	CGB7	NM_033142	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,25	*
8089000	CGGBP1	NM_001008390	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,25	*	
8076302	CHADL	NM_138481	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,25	*
7927482	CHAT	NM_001142933	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
7928401	CHCHD1	NM_203298	NC	NC	NC	NC	NC	1,39	*	NC	NC	1,30	*
8074939	CHCHD10	NM_213720	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,29	*
8146517	CHCHD7	NM_001011667	NC	NC	NC	1,23	NC	1,24	*	NC	NC	1,23	*
8113305	CHD1	NM_001270	NC	NC	NC	1,29	NC	1,34	*	NC	NC	1,40	*
7904883	CHD1L	NM_004284	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,26	*	
7967841	CHFR	NM_018223	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,24	*
7925500	CHML	NM_001821	NC	NC	NC	NC	NC	1,44	*	1,21	NC	1,41	*
7978174	CHMP4A	NM_014169	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
8154785	CHMP5	NM_016410	NC	NC	NC	NC	1,21	1,24	NC	NC	1,34	*	
7950983	CHORDC1	NM_012124	NC	NC	1,56	*	NC	NC	NC	1,29	NC	1,66	*
8059244	CHPF	NM_024536	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,36	*
7950425	CHRD12	NM_015424	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
7947649	CHRM4	NM_000741	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
7990714	CHRNA3	NM_000743	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
8067610	CHRNA4	NM_000744	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
7982341	CHRNA7	NM_000746	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8004416	CHRN1	NM_000747	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*
8146230	CHRN3	NM_000749	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8049152	CHRNA7	NM_000751	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*
8049166	CHRNA7	NM_000751	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,33	*
7982745	CHST14	NM_130468	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,20	
7997152	CHST4	NM_005769	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8002882	CHST6	NM_021615	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	-1,31	*
7992092	CHTF18	NM_022092	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*

7935707	CHUK	NM_001278	NC	NC	NC	1,22	NC	1,39 *	1,22	NC	1,36 *
8029193	CIC	NM_015125	NC	NC	-1,22	-1,23	-1,24	NC	-1,35	-1,21	-1,40 *
7989750	CILP	NM_003613	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8027222	CILP2	NM_153221	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,30 *
8056829	CIR	NM_004882	NC	1,28	1,25	NC	NC	NC	1,24	1,40	1,32 *
8173524	CITED1	NM_001144886	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7969243	CKAP2	NM_018204	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,28 *
7947694	CKAP5	NM_001008938	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,31 *
7983239	CKMT1A	NM_001015001	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7983256	CKMT1A	NM_001015001	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8106689	CKMT2	NM_001825	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,22 *
7905826	CKS1B	NR_024163	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	NC
8086077	CLASP2	NM_015097	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
7902754	CLCA3P	NR_024604	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7918255	CLCC1	NM_001048210	1,23	NC	1,24	NC	NC	NC	1,27	NC	1,32 *
7949754	CLCF1	NM_013246	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8167603	CLCN5	NM_001127899	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
7898314	CLCNKB	NM_000085	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,34 *
8083887	CLDN11	NM_005602	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,32 *
8141708	CLDN15	NM_014343	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,26 *
7915435	CLDN19	NM_001123395	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	NC	NC	-1,36 *
8144505	CLDN23	NM_194284	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
8089062	CLDND1	NM_019895	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	NC	1,30 *
8030721	CLEC11A	NM_002975	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,21
8079305	CLEC3B	NM_003278	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8036252	CLIP3	NM_015526	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8041179	CLIP4	NM_024692	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7920737	CLK2	NM_003993	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,32	NC	1,29 *
8116227	CLK4	NM_020666	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,31	1,22	1,33 *
7989735	CLPX	NM_006660	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,40 *
8091491	CLRN1	NM_052995	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7937016	CLRN3	NM_152311	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8008834	CLTC	NM_004859	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8019831	CLUL1	NM_014410	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8021741	CNDP1	NM_032649	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8021727	CNDP2	NM_018235	NC	NC	NC	1,29	1,27	1,40 *	1,28	1,22	1,37 *
8037179	CNFN	NM_032488	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
7941587	CNIH2	NM_182553	NC	1,21	NC	-1,29	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7910022	CNIH3	NM_152495	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
8025918	CNN1	NM_001299	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8078412	CNOT10	NM_015442	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8110589	CNOT6	NM_015455	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC
8007388	CNTD1	NM_173478	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8036835	CNTD2	NM_024877	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,28 *
8154449	CNTLN	NM_017738	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
7954899	CNTN1	NM_001843	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7943319	CNTN5	NM_014361	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8139680	COBL	NM_015198	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7910446	COG2	NM_007357	NC	NC	NC	1,31	NC	1,40 *	1,23	NC	1,25
7968931	COG3	NM_031431	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	NC	NC	1,29 *
8002381	COG4	NM_015386	NC	NC	NC	1,25	NC	1,52 *	1,30	NC	1,28
7968711	COG6	NR_026745	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	1,20	NC	1,38 *
8000263	COG7	NM_153603	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,33 *
8129082	COL10A1	NM_000493	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8127563	COL12A1	NM_004370	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8156783	COL15A1	NM_001855	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,20 *
7936144	COL17A1	NM_000494	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8069208	COL18A1	NM_030582	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,23 *
8016646	COL1A1	NM_000088	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,20
8134263	COL1A2	NM_000089	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8157383	COL27A1	NM_032888	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7962703	COL2A1	NM_001844	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,20
8112687	COL4A3BP	NM_005713	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	1,23 *
8059477	COL4A4	NM_000092	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8174389	COL4A6	NM_033641	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8033825	COL5A3	NM_015719	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8082597	COL6A6	NM_001102608	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8086985	COL7A1	NM_000094	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8081235	COL8A1	NM_001850	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8063970	COL9A3	NM_001853	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,21
8040045	COLEC11	NM_199235	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8107458	COMMD10	NM_016144	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *	NC	NC	1,23
7926596	COMMD3	NM_012071	NC	NC	NC	1,32	1,26	1,34 *	1,31	NC	1,44 *
7946703	COPB1	NM_016451	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *	NC	NC	NC
8091048	COPB2	NR_023350	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	NC	NC	1,51 *
8035553	COPE	NM_007263	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20
7988605	COPS2	NM_004236	NC	NC	1,23	1,23	1,24	NC	NC	1,36	1,29 *
8151136	COPS5	NM_006837	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,29 *
8101437	COQ2	NM_015697	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7993608	COQ7	NM_016138	NC	1,22	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *

## Anexo 2

7994769	CORO1A	NM_007074	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
7935647	COX15	NM_078470	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8137693	COX19	NM_001031617	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,21
8151993	COX6C	NM_004374	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC
8168470	COX7B	NM_001866	-1,49	-1,52	-1,80	NC	1,44	1,66 *	-1,34	NC	NC
8106776	COX7C	NM_001867	-1,29	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
7976402	COX8C	NM_182971	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8136217	CPA5	NM_001127441	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8006123	CPD	NM_001304	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8098782	CPLX1	NM_006651	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,24
8110114	CPLX2	NM_006650	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,25 *
7984908	CPLX3	NM_001030005	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7935679	CPN1	NM_001308	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,22
8126035	CPNE5	NM_020939	NC	NC	NC	-1,27	-1,23	NC	-1,28	NC	-1,34 *
7997942	CPNE7	NM_014427	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,24 *
7962250	CPNE8	NM_153634	NC	NC	1,51	NC	NC	NC	NC	1,23	1,43 *
8047829	CPO	NM_173077	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
7999553	CPPEDI	NM_018340	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	1,22	1,31 *
7948574	CPSF7	NM_024811	NC	NC	-1,24	-1,27	-1,24	-1,21	-1,31	-1,22	-1,50 *
8030448	CPT1C	NM_001136052	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8157731	CRB2	NM_173689	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,29 *
8133145	CRCP	NM_014478	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	NC	NC	1,23 *
8024754	CREB3L3	NM_032607	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,34 *
8007808	CRHR1	NM_001145146	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
8138865	CRHR2	NM_001883	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,29 *
8035506	CRLF1	NM_004750	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,26 *
8065256	CRNKL1	NM_016652	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	1,21	1,28 *
7920178	CRNN	NM_016190	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8133938	CROT	NM_001143935	1,30	NC	NC	NC	NC	1,31	1,47	NC	1,45 *
7935535	CRTAC1	NM_018058	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7920382	CRTC2	NM_181715	NC	NC	NC	-1,32	-1,27	-1,41	-1,41	-1,26	-1,64 *
7986049	CRTC3	NM_022769	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,24	NC	-1,31 *
8029978	CRX	NM_000554	NC	NC	1,33 *	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7966052	CRY1	NM_004075	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,24	NC	1,35 *
8068883	CRYAA	NM_000394	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,32 *
8059019	CRYBA2	NM_057093	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8071997	CRYBB2	NM_000496	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,23
8081171	CRYBG3	NM_153605	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	1,22	NC	1,47 *
8058535	CRYGA	NM_014617	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,21 *
8058524	CRYGC	NM_020989	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8143949	CRYGN	NM_144727	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8170576	CSAG1	NM_153478	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,49 *	NC	NC	-1,22
8170580	CSAG2	NM_001080848	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8175710	CSAG2	NM_001080848	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,21 *
8073449	CSDC2	NM_014460	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
7918825	CSDE1	NM_001007553	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8149574	CSGALNACT1	NM_018371	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,31 *
8017476	CSH2	NM_022644	NC	NC	1,41	NC	NC	-1,61 *	NC	NC	NC
8017499	CSHL1	NM_022579	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,27 *
8115022	CSNK1A1	NM_001025105	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
7987381	CSNK1A1P	NR_027320	1,22	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,23 *
8024358	CSNK1G2	NM_001319	NC	NC	-1,26	NC	1,20	1,50 *	NC	NC	NC
8107655	CSNK1G3	NM_004384	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8086799	CSPG5	NM_006574	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7965090	CSRFP2	NM_001321	NC	-1,27	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,37 *
8168762	CSTF2	NM_001325	NC	NC	NC	1,29	NC	1,40 *	1,36	NC	1,48 *
8174831	CT47B1	NM_001145718	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8170965	CTAG1A	NM_139250	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,24 *
8176149	CTAG1A	NM_139250	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,24 *
7974090	CTAGE5	NM_005930	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
7931389	CTAGEP	BC036527	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7917240	CTBS	NM_004388	NC	NC	1,24	NC	1,23	NC	1,20	1,25	1,29 *
7996593	CTCF	NM_006565	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
8129562	CTGF	NM_001901	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,25 *
8108378	CTNNA1	NM_001903	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,36 *
8062409	CTNBL1	NM_030877	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7940079	CTNND1	NM_001085458	NC	NC	1,48 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
7900510	CTPS	NM_001905	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
8171493	CTPS2	NM_175859	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
7938422	CTR9	NM_014633	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	1,29	NC	1,39 *
7997264	CTRB1	NM_001906	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,22
8002845	CTRB2	NM_001025200	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,22 *
7941444	CTSW	NM_001335	NC	NC	-1,26	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,41 *
8142497	CTTNBP2	NM_033427	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8137054	CUL1	NM_003592	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8059393	CUL3	NM_003590	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7970262	CUL4A	NM_001008895	NC	NC	NC	1,23	NC	1,22 *	1,31	NC	1,33 *
7943580	CUL5	NM_003478	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	1,27	1,25	1,40 *
7935730	CWF19L1	NM_018294	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *	1,21	NC	1,28 *
7951447	CWF19L2	NM_152434	1,30	1,27	1,24	NC	NC	NC	1,29	NC	1,32 *



7996027	CX3CL1	NM_002996	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,36 *
7933194	CXCL12	NM_000609	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8100994	CXCL2	NM_002089	-3,19	NC	-2,45	NC	-1,46	NC	NC	-3,44	-1,71	-2,29 *
8095688	CXCL6	NM_002993	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8173493	CXCR3	NM_001142797	NC	NC	-1,38	NC	-1,23	NC	NC	-1,27	-1,44	-1,45 *
8170247	CXorf18	AK093505	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8171708	CXorf23	NM_198279	NC	NC	1,21	NC	NC	1,31	NC	1,38	NC	1,58 *
8168447	CXorf26	BC001220	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC	1,30 *
8169085	CXorf39	NM_207318	NC	NC	NC	1,22	NC	1,24 *	NC	NC	NC	NC
8170393	CXorf40A	NM_178124	NC	NC	-1,28	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC	NC
8175642	CXorf40B	NM_001013845	NC	-1,26	-1,48	NC	1,35	1,62 *	NC	NC	NC	NC
8175311	CXorf48	NM_001031705	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC	-1,25
8174677	CXorf56	AK298877	NC	1,24	NC	NC	NC	1,25	NC	1,39	NC	1,28 *
7996947	CYB5B	NM_030579	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC	NC
7916393	CYB5RL	NM_001031672	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC	NC
8166730	CYBB	NM_000397	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7981824	CYFIP1	NM_014608	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8153819	CYHR1	NM_138496	NC	NC	-1,44	NC	1,24	1,56 *	NC	NC	NC	NC
8168569	CYLC1	NM_021118	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC	NC
8176698	CYorf15A	NM_001005852	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,29 *
7936050	CYP17A1	NM_000102	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC	NC
7990391	CYP1A1	NM_000499	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC	NC
7984862	CYP1A2	NM_000761	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC	NC
8118498	CYP21A2	NM_000500	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	NC
7929322	CYP26A1	NM_000783	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC	NC
8028973	CYP2A13	NM_000766	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC	NC
7929466	CYP2C18	NM_000772	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC	NC
7929487	CYP2C9	NM_000771	NC	NC	NC	-1,21	-1,21	-1,26 *	NC	-1,20	-1,22	NC
7946742	CYP2R1	NM_024514	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,30 *	NC
7901256	CYP4B1	NM_001099772	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
8140864	CYP51A1	NM_000786	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *	NC	NC	NC	1,22
7969050	CYSLTR2	NM_020377	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,27	1,45 *	NC
7916568	DAB1	AF263547	NC	1,21	1,67 *	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	1,24	NC
8130859	DACT2	NM_214462	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	NC
8037788	DACT3	NM_145056	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,29 *	NC
7958425	DAO	NM_001917	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	-1,21	NC
8045882	DAPL1	NM_001017920	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7906435	DARC	NM_002036	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
8055445	DARS	NM_001349	NC	-1,25	-1,25	1,27	1,24	1,32 *	NC	NC	NC	NC
8163716	DBC1	NM_014618	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC	NC
8007673	DBF4B	BC033660	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	NC	NC
8159096	DBH	NM_000787	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC
8090960	DBR1	NM_016216	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC	NC
7963845	DCD	NM_053283	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC
7970954	DCLK1	NM_004734	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC	NC
8107356	DCP2	NM_152624	NC	NC	NC	NC	1,26	1,25 *	NC	1,26	1,36 *	NC
7905862	DCST1	NM_152494	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC
8115181	DCTN4	NM_001135643	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC
7972912	DCUN1D2	NM_001014283	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	1,22	NC	1,43 *	NC
8000028	DCUN1D3	NM_173475	-1,22	NC	NC	NC	NC	1,36 *	NC	1,21	1,37 *	NC
7951325	DCUN1D5	NM_032299	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	1,26	NC	NC	NC
8019357	DCXR	NM_016286	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,32	-1,32 *	NC
8026729	DDA1	NM_024050	NC	NC	NC	-1,23	-1,24	NC	NC	NC	-1,30 *	NC
7939738	DDB2	NM_000107	NC	NC	-1,29	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC	NC
7979223	DDHD1	NM_030637	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,28	1,28	1,43 *	NC
7962930	DDN	NM_015086	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,21 *	NC
8117900	DDR1	NM_013993	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC
8177867	DDR1	NM_013993	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC
8179184	DDR1	NM_013993	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC
8040386	DDX1	NM_004939	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC
7943690	DDX10	NM_004398	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	1,30	NC	1,37 *	NC
7997059	DDX19A	NM_018332	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,23	NC
7904000	DDX20	NM_007204	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC
7927936	DDX21	NM_004728	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,41 *	NC
7962869	DDX23	NM_004818	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	NC	1,28 *	NC
8170027	DDX26B	NM_182540	NC	NC	NC	1,22	1,20	NC	1,26	NC	1,29 *	NC
8063315	DDX27	NM_017895	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,20 *	NC
8166876	DDX3X	NM_001356	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC
8009205	DDX42	NM_007372	NC	NC	NC	1,25	NC	1,21 *	NC	NC	1,25 *	NC
8108134	DDX46	NM_014829	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *	NC
8166440	DDX53	NM_182699	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC	NC
7958948	DDX54	NM_001111322	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,30 *	NC
7959604	DDX55	NM_020936	NC	NC	NC	NC	1,21	1,29 *	1,29	NC	1,49 *	NC
8103563	DDX60	NM_017631	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,24	NC	1,30 *	NC
8147228	DECR1	NM_001359	NC	NC	NC	1,29	NC	1,27 *	NC	NC	1,21	NC
8149142	DEFA5	NM_021010	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,26 *	NC
7942284	DEFB108B	NM_001002035	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	-1,29	-1,24 *	NC
8094136	DEFB108B	NM_001002035	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	-1,29	-1,24 *	NC
8126937	DEFB113	NM_001037729	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC	NC
8061519	DEFB123	NM_153324	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,25	NC

## Anexo 2

8060303	DEFB125	NM_153325	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC
8060325	DEFB132	NM_207469	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,20
8149347	DEFB137	NM_001033018	NC	NC	1,25	*	NC	-1,27	*	NC	NC	NC
7910001	DEGS1	NM_003676	NC	NC	-1,35	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC
7981278	DEGS2	NM_206918	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,42
7918755	DENND2C	BC063894	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,44	*	NC	-1,25	NC
8148476	DENND3	NM_014957	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30
7954185	DERA	NM_015954	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22
8048541	DES	NM_001927	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC
8163599	DFNB31	NM_015404	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,22	NC	NC	NC	-1,28
8168098	DGAT2L6	NM_198512	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC
8008629	DGKE	NM_003647	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35
7968800	DGKH	NM_178009	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26
7968890	DGKZ	NM_003646	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27
7997179	DHODH	NM_001361	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23
8099649	DHX15	NM_001358	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32
7936949	DHX32	NM_018180	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	1,34
8011861	DHX33	NM_020162	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29
8062576	DHX35	NM_021931	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,21	NC	NC	1,33
8091562	DHX36	NM_020865	NC	NC	NC	1,23	NC	1,36	*	1,28	NC	1,46
7997197	DHX38	NM_014003	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,27
8051637	DHX57	NM_198963	1,26	NC	1,31	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	1,41
7908022	DHX9	NM_001357	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	1,31
8168691	DIAPH2	NM_006729	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,36
7981111	DICER1	NM_177438	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37
8112312	DIMT1L	NM_014473	1,22	NC	1,27	NC	NC	NC	1,27	NC	NC	1,29
7976858	DIO3	NM_001362	NC	-1,26	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,27
7955376	DIP2B	NM_173602	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22
8162254	DIRAS2	NM_017594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
8057615	DIRC1	NM_052952	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
7971967	DIS3	NM_014953	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	1,38
7984298	DIS3L	NM_001143688	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,45	*	1,30	NC	NC
7982703	DISP2	NM_033510	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC
8170971	DKC1	NM_001363	NC	NC	1,20	NC	NC	1,30	*	NC	NC	1,31
7942769	DKFZp434E1119	AL834516	-1,24	NC	NC	NC	NC	-1,47	*	-1,29	-1,33	-1,59
8110486	DKFZp686E2433	AK300504	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,21	NC	NC	1,34
8019181	DKFZp761P0212	AL162045	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,26
7938481	DKK3	NM_015881	1,28	1,25	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,30
8135464	DLD	NM_000108	NC	1,24	1,34	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,33
8062293	DLGAP4	NM_014902	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26
7976783	DLK1	NM_003836	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,23
8126556	DLK2	NM_023932	NC	-1,22	NC	-1,22	NC	-1,24	-1,24	NC	NC	-1,34
8028719	DLL3	NM_016941	NC	NC	NC	NC	-1,25	-1,27	*	NC	NC	-1,22
7982854	DLL4	NM_019074	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,26
7917080	DLSTP //	S72422	NC	NC	-1,46	*	NC	1,26	*	NC	NC	NC
8046373	DLX1	NM_178120	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,26
8056784	DLX2	NM_004405	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC
8016609	DLX3	NM_005220	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC
8008228	DLX4	NM_138281	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC
8134407	DLX6	NM_005222	-1,23	-1,23	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC
7931108	DMBT1	NM_007329	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	-1,21	-1,21
7901247	DMBX1	NM_172225	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,26
8036079	DMKN	NM_033317	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24
8168375	DMRTC1	NM_033053	NC	-1,27	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	-1,23	-1,32
8029117	DMRTC2	NM_001040283	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,28
8133914	DMTF1	NR_024549	NC	NC	NC	NC	1,21	1,28	*	1,35	NC	1,26
8107474	DMXL1	NM_005509	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,28
7988789	DMXL2	NM_015263	NC	NC	1,33	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,56
8001185	DNAJA2	NM_005880	NC	NC	NC	1,21	NC	1,22	NC	1,32	NC	1,45
7942489	DNAJB13	NM_153614	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21
7989885	DNAJB14	NM_001031723	NC	NC	1,24	NC	1,29	NC	1,30	1,36	NC	1,45
8101934	DNAJB14	NM_001031723	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,31	1,36	NC	1,32
8059832	DNAJB3	NM_001001394	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC
8046759	DNAJC10	NM_018981	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,43
7898192	DNAJC16	NM_015291	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20
8114526	DNAJC18	NM_152686	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC
8104838	DNAJC21	NM_194283	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37
7969651	DNAJC3	NM_006260	NC	NC	NC	1,39	1,23	1,28	1,25	1,35	NC	1,34
7949058	DNAJC4	NM_005528	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,44
8015490	DNAJC7	NM_003315	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,22	NC	1,27
7914194	DNAJC8	NM_014280	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,35	*	NC	NC	NC
7975616	DNALI	NM_031427	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	NC	NC	NC
8114625	DND1	NM_194249	-1,33	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,26
7954752	DNM1L	NM_012062	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,36
8033912	DNMT1	NM_001130823	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22
8000757	DOC2A	NM_003586	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC
8142345	DOCK4	NM_014705	NC	1,22	1,38	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32
8153959	DOCK8	NM_203447	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20
8120883	DOPEY1	NM_015018	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28
8137485	DPP6	NM_001039350	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC

7989806	DPP8	NM_197960	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*		
8141882	DPY19L2P2	NR_003561	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	1,43	*	1,25	NC	1,51	*	
8027448	DPY19L3	NM_207325	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	1,47	*	NC	NC	1,32	*	
7917912	DPYD	NM_000110	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	*	
8145470	DPYSL2	NM_001386	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8115875	DRD1	NM_000794	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC	
7951703	DRD2	NM_000795	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	NC	-1,24	*
7937433	DRD4	NM_000797	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*
7905025	DRD5	NM_000798	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	NC	-1,26	*
8053725	DRD5	NM_000798	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	NC	-1,28	*
8053728	DRD5	NM_000798	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	-1,32	*
8068578	DSCR10	AB066291	NC	NC	1,31	*	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	NC	
8070269	DSCR3	NM_006052	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,36	*	1,23	NC	NC	NC	
8068512	DSCR6	NM_018962	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	NC	NC	
8066074	DSN1	NM_001145316	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	1,28	NC	NC	NC	
8127234	DST	NM_001144769	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	
8012116	DULLARD	NM_015343	NC	NC	NC	-1,23	-1,29	-1,32	*	-1,25	NC	NC	-1,49	*	
7983413	DUOX1	NM_017434	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	-1,23	-1,32	-1,31	*	
7988380	DUOX1A	NM_144565	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	-1,20	
7983405	DUOX2	NM_207581	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	-1,20	
8065580	DUSP15	NM_080611	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC	
8075423	DUSP18	NM_152511	1,26	-1,20	NC	NC	NC	NC	1,39	*	1,23	NC	1,29	*	
8166950	DUSP21	NM_022076	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
7983594	DUT	NM_001025248	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	
8098732	DUX4	NM_033178	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	-1,21	*
8098740	DUX4	NM_033178	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	-1,22	*
8104122	DUX4	NM_033178	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	NC	-1,20	*
8039635	DUXA	NM_001012729	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
7911506	DVLI	NM_004421	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
7976876	DYNCH1H1	NM_001376	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	*	NC	NC	NC	NC	
7967067	DYNLL1	CR542128	-1,24	NC	-1,29	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,29	*	
8062016	DYNLRB1	NM_014183	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	-1,43	*	
7956930	DYRK2	NM_006482	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	1,30	*	NC	NC	NC	NC	
7909225	DYRK3	NM_001004023	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC	
8019243	DYSFIP1	NM_001007533	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	-1,24	
7972336	DZIP1	NM_198968	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC	
8090938	DZIPIL	NM_173543	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC	
8050336	E2F6	NR_003094	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	1,27	1,39	*	
8149865	EBF2	NM_022659	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	-1,21	NC	NC	
8060505	EBF4	NM_001110514	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	
7915485	EBNA1BP2	NM_006824	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	NC	NC	1,25	*
8059748	ECEL1	NM_004826	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	-1,24	
8059744	ECELIP2	BC067110	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	
8065855	EDEM2	NR_026728	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC	1,22	
7922823	EDEM3	NM_025191	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	
7915385	EDN2	NM_001956	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	-1,21	NC	-1,25		
7965436	EEA1	NM_003566	NC	NC	NC	1,36	1,37	1,32	1,32	1,32	1,28	NC	1,48	*	
7942914	EED	NM_152991	1,29	1,33	1,30	NC	NC	NC	1,25	1,25	1,23	1,23	1,33	*	
8127544	EEF1A1	NM_001402	-1,25	NC	NC	1,24	NC	1,43	*	NC	NC	NC	1,24		
7911112	EFCAB2	NR_026586	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	NC		
7937498	EFCAB4A	NM_173584	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
7901931	EFCAB7	NM_032437	NC	NC	NC	NC	NC	1,42	*	1,23	NC	1,25	1,25		
8052355	EFEMP1	NM_004105	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC		
8049187	EFHD1	NM_025202	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	NC	-1,28		
7898161	EFHD2	NM_024329	NC	NC	-1,31	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	
8148333	EFR3A	NM_015137	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	
7990879	EFTUD1	NM_024580	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	1,39	*	
8159354	EGFL7	NM_016215	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	-1,21		
8132860	EGFR	NM_005228	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC		
8053022	EGR4	NM_001965	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	NC	-1,29	*	
8042223	EHBP1	NM_015252	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	
7949440	EHBP1L1	NM_001099409	-1,28	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	
8029950	EHD2	NM_014601	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	
7983606	EID1	NM_014335	NC	NC	1,21	1,37	1,21	NC	1,23	1,36	1,36	1,39	*		
7912852	EIF1AX	NM_001412	NC	NC	1,27	1,26	NC	NC	1,21	1,31	1,31	1,42	*		
8171747	EIF1AX	NM_001412	NC	NC	NC	1,23	1,20	NC	NC	1,23	1,24	1,24	*		
8083333	EIF2A	NM_032025	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*		
8051501	EIF2AK2	NM_002759	NC	NC	NC	NC	1,20	1,28	1,23	1,32	1,32	1,52	*		
8053668	EIF2AK3	NM_004836	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*		
7982620	EIF2AK4	NM_001013703	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*		
7967473	EIF2B1	NM_001414	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	NC		
7915640	EIF2B3	NM_020365	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*	NC	NC	NC	1,27	*	
8084303	EIF2B5	NM_003907	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,32	*		
7900009	EIF2C4	NM_017629	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,41	*		
7975224	EIF2S1	NM_004094	NC	NC	1,30	1,27	NC	NC	1,31	1,24	1,24	1,42	*		
8065730	EIF2S2	NM_003908	NC	NC	NC	1,27	NC	1,21	NC	NC	NC	1,43	*		
8166493	EIF2S3	NM_001415	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,20	1,20	*		
7983350	EIF3J	NM_003758	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	1,23	1,22	*		
8028514	EIF3K	NM_013234	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC		
8084694	EIF4A2	NM_001967	NC	NC	NC	1,24	1,25	1,33	*	NC	NC	1,26	*		

## Anexo 2

8084704	EIF4A2	AB209021	NC	NC	-1,26	1,28	1,66	1,93 *	NC	1,68	1,53
8021222	ELAC1	NM_018696	NC	NC	-1,30	1,25	NC	1,37 *	NC	NC	NC
8012856	ELAC2	NM_018127	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,22	NC	1,22 *
8102817	ELF2	NM_201999	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
7908793	ELF3	NM_001114309	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8097529	ELMOD2	NM_153702	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	1,28	NC	1,36 *
8102342	ELOVL6	NM_024090	NC	NC	NC	1,28	NC	1,36 *	1,37	1,27	1,34 *
8020930	ELP2	NM_018255	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	1,28	NC	1,27 *
7939102	ELP4	NM_019040	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8170850	EMD	NM_000117	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC
7992379	EME2	NM_001010865	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,26 *
7953594	EMG1	NM_006331	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC
8135099	EMID2	NM_133457	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,23 *
8019912	EMILIN2	NM_032048	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,28 *
7930857	EMX2	NM_004098	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,23 *
8054831	EN1	NM_001426	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,21 *
8137537	EN2	NM_001427	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
7924619	ENAH	NM_001008493	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8021966	ENOSF1	NM_017512	NC	NC	NC	1,23	NC	1,32	1,42	NC	1,45 *
8078971	ENTPD3	NM_001248	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	NC
7980080	ENTPD5	NM_001249	NC	NC	NC	1,24	NC	1,32 *	1,26	NC	1,33 *
8165538	ENTPD8	NM_001033113	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,31 *
8173930	EPAG	L22650	NC	NC	-1,21	NC	NC	1,31 *	NC	NC	NC
8062251	EPB41L1	NM_012156	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8129497	EPB41L2	NM_001431	NC	NC	1,37	NC	NC	NC	NC	NC	1,44 *
8022118	EPB41L3	NM_012307	NC	NC	1,32	NC	NC	NC	NC	NC	1,42 *
7932938	EPC1	NM_025209	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8086141	EPM2AIP1	NM_014805	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,22 *
8005557	EPN2	NM_014964	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8008372	EPN3	NM_017957	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,26 *
8034217	EPOR	NM_000121	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7924351	EPRS	NM_004446	NC	NC	NC	1,21	NC	1,25	1,22	NC	1,35 *
7937443	EPS8L2	NM_022772	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *
8054995	ERCC3	AK127469	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,28 *
7993298	ERCC4	NM_005236	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	1,37 *
7969935	ERCC5	NM_000123	NC	NC	NC	1,22	NC	1,24 *	1,23	NC	1,37 *
8112285	ERCC8	NM_000082	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	1,28 *
8148985	ERICH1	NM_207332	NC	NC	NC	1,28	NC	1,31 *	1,26	1,20	1,31 *
7979179	ERO1L	NM_014584	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7925342	ERO1LB	NM_019891	NC	NC	NC	1,24	NC	1,29 *	NC	NC	1,40 *
8140909	ERVWE1	NM_014590	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,31 *
8022473	ESCO1	NM_052911	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,23	NC	1,27 *
8065032	ESF1	NM_016649	NC	NC	NC	1,27	1,36	1,36 *	1,31	NC	1,32
7955736	ESPL1	NM_012291	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	-1,21 *
7897288	ESPN	NM_031475	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,34 *
8049598	ESPNL	NM_194312	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,30 *
7912854	ESPNP	NR_026567	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	-1,42 *
8147351	ESRP1	NM_017697	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7990566	ETFA	NM_000126	-1,29	-1,23	-1,21	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8098084	ETFDH	NM_004453	NC	NC	NC	1,33	1,23	1,39 *	1,39	NC	1,57 *
8027920	ETV2	NM_014209	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,22
8091972	EVII	NM_001105078	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8018579	EVPL	NM_001988	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,36 *
8131970	EVX1	NM_001989	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *
8072206	EWSR1	NM_005243	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	1,25	1,30 *
7975311	EXD2	NM_018199	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8095163	EXOC1	NM_001024924	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,25	NC	1,39 *
8001953	EXOC3L	NM_178516	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,22
8037513	EXOC3L2	NM_138568	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,28 *
7979367	EXOC5	NM_006544	NC	NC	NC	1,37	1,22	1,31	1,31	1,29	1,57 *
7929288	EXOC6	NM_019053	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,27	NC	1,30 *
8078818	EXOG	NM_005107	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,34	NC	1,34 *
7935462	EXOSC1	NM_016046	NC	NC	NC	NC	1,20	1,24 *	NC	NC	NC
8037023	EXOSC5	NM_020158	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	1,20 *	NC	NC	NC
8151310	EYA1	NM_000503	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8063187	EYA2	NM_172111	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,23 *
8122150	EYA4	NM_004100	1,22	NC	NC	-1,23	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8106393	F2R	NM_001992	NC	NC	-1,31	1,37	NC	1,41 *	1,27	NC	NC
8026631	F2RL3	NM_003950	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,30 *	-1,25	NC	-1,30 *
8109629	FABP6	NM_001040442	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8121784	FABP7	NM_001446	NC	1,21	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7948612	FADS1	NM_013402	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
7963142	FAIM2	NM_012306	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	-1,21	NC
7923917	FAIM3	NM_005449	NC	NC	-1,30	-1,22	-1,26	-1,31	-1,28	-1,31	-1,69 *
7999173	FAM100A	NM_145253	NC	NC	-1,21	-1,47	-1,51	-1,48	-1,36	-1,33	-1,79 *
7903507	FAM102B	NM_001010883	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	1,42 *
8104570	FAM105A	NM_019018	NC	NC	1,26	1,24	NC	NC	1,22	1,24	1,33 *
8032371	FAM108A1	NM_031213	NC	NC	NC	-1,31	NC	-1,25	-1,21	NC	-1,46 *
8074644	FAM108A5	XR_015564	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8049965	FAM110C	AK302544	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC

8143605	FAM115A	AK291605	-1,24	NC	-1,38	1,38	NC	1,55 *	NC	NC	NC
8016590	FAM117A	NM_030802	NC	NC	-1,33	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,42 *
8026751	FAM125A	NM_138401	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8170009	FAM127A	NM_001078171	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8175299	FAM127C	NM_001078173	NC	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,41 *
8143564	FAM131B	NM_001031690	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7912701	FAM131C	NM_182623	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *
8055978	FAM133B	NM_152789	NC	NC	1,34	NC	1,27	NC	1,24	1,50	1,53 *
8105504	FAM133B	NM_152789	NC	NC	1,23	NC	1,30	1,20	1,25	1,44	1,48 *
8140942	FAM133B	NM_001040057	NC	NC	1,28	NC	1,26	1,20	1,21	1,47	1,53 *
8048468	FAM134A	NM_024293	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,22 *
7960172	FAM138D	AY341951	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8114326	FAM13B	NM_016603	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8032034	FAM148C	NM_001136263	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,34 *
8082066	FAM162A	NM_014367	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8164937	FAM163B	NM_001080515	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8165498	FAM166A	NM_001001710	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,34 *
7899750	FAM167B	NM_032648	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
7950271	FAM168A	EF363480	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,35 *
8107554	FAM170A	NM_182761	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7933498	FAM170B	ENST00000374157	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,24
7931216	FAM175B	NM_032182	NC	NC	-1,28	NC	NC	1,35 *	1,23	NC	NC
7929858	FAM178A	NM_018121	NC	NC	NC	NC	NC	1,41 *	1,23	NC	1,39 *
8054020	FAM178B	NM_001122646	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,30 *
8065527	FAM182A	NR_026713	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8099551	FAM184B	NM_015688	NC	NC	NC	NC	1,21	-1,24 *	NC	NC	NC
8135211	FAM185A	NR_026879	NC	NC	NC	1,36	NC	1,60 *	1,41	NC	1,42
8005501	FAM18B2	NM_001135036	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *
7928619	FAM22A	NM_001099338	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
7928645	FAM22A	NM_001099338	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	-1,21	NC	-1,30 *
7928653	FAM22A	NM_001099338	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	-1,21	NC	-1,28 *
7928915	FAM22D	NM_001009610	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	-1,21	NC	-1,32 *
8162479	FAM22F	NM_017561	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	-1,20
8155569	FAM27E3	BC119675	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,20
8161426	FAM27E3	BC119675	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,20
8161437	FAM27E3	BC119675	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,20
8026541	FAM32A	AF151902	NC	NC	-1,24	1,21	NC	1,32 *	NC	NC	NC
8017133	FAM33A	NM_182620	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,36 *	NC	NC	NC
8176117	FAM3A	NM_021806	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8088425	FAM3D	NM_138805	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,30 *
7903827	FAM40A	NM_033088	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7930882	FAM45A	NM_207009	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8127778	FAM46A	NM_017633	NC	NC	NC	NC	1,22	1,30	1,28	1,40	1,29 *
8172017	FAM47A	NM_203408	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7899057	FAM54B	NM_019557	NC	NC	-1,21	1,20	NC	1,35 *	NC	NC	NC
7913850	FAM54B	NM_019557	NC	-1,21	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	-1,29 *
7944023	FAM55B	NM_182495	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8000772	FAM57B	NM_031478	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	-1,23	-1,34 *
7922994	FAM5C	NM_199051	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
7983940	FAM63B	NM_001040450	NC	NC	NC	NC	1,30	1,49 *	NC	1,22	1,36
8004167	FAM64A	NM_019013	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7924163	FAM71A	BC035007	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	-1,22	-1,21
8115481	FAM71B	NM_130899	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8039477	FAM71E2	NM_001145402	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,28 *
8135945	FAM71F1	NM_032599	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7904452	FAM72D	AB096683	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	NC	1,27	1,49 *
7909146	FAM72D	AB096683	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *	NC	1,26	1,47 *
7919591	FAM72D	AB096683	1,24	-1,22	NC	NC	1,32	1,53 *	NC	NC	1,56 *
8039928	FAM72D	AB096683	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,25	1,45 *
7902476	FAM73A	BX537792	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC
7899350	FAM76A	NM_001143912	NC	NC	NC	1,25	NC	1,40 *	1,30	NC	1,20
7922001	FAM78B	BC114214	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,29 *
8151644	FAM82B	NM_016033	NC	NC	NC	1,22	NC	1,31 *	NC	NC	1,29 *
8038109	FAM83E	NM_017708	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,27
8040374	FAM84A	NM_145175	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,32 *
7896756	FAM87B	ENST00000326734	-1,24	-1,22	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *
8148208	FAM91A1	NM_144963	NC	NC	NC	NC	1,23	1,27 *	1,29	1,24	1,43 *
8003193	FAM92B	NM_198491	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8051413	FAM98A	NM_015475	1,26	1,22	NC	NC	NC	1,30 *	1,25	NC	1,35 *
8077731	FANCD2	NM_033084	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	1,29	NC	1,32 *
7947138	FANCF	NM_022725	NC	NC	NC	1,26	NC	1,43 *	1,34	NC	1,27
7985829	FANCI	NM_001113378	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,24 *
7974166	FANCM	NM_020937	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *	NC	NC	1,43 *
7938592	FARI	NM_032228	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,37 *
8143863	FASTK	NM_006712	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8056693	FASTKD1	NM_024622	NC	NC	NC	NC	NC	1,46 *	NC	NC	1,31
8047815	FASTKD2	NM_001136194	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *	NC	NC	1,35 *
7898263	FBLIM1	NM_017556	NC	NC	1,27	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8077970	FBLN2	NM_001004019	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	-1,27	NC	NC
7994874	FBR5	NM_001105079	NC	NC	-1,33	-1,41	-1,39	-1,25	-1,41	-1,23	-1,66 *

## Anexo 2

7960088	FBRS11	NM_001142641	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,20	NC	NC	-1,31	*	
7992032	FBXL16	ENST00000397621	-1,22	-1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	
7998297	FBXL16	NM_153350	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	
8137964	FBXL18	NM_024963	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8014825	FBXL20	NM_032875	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	1,27	*	
7972062	FBXL3	NM_012158	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	1,20		
8153709	FBXL6	NM_012162	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,20	-1,25	*
8104592	FBXL7	NM_012304	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,22	*
8052024	FBXO11	NM_025133	NC	NC	1,33	*	NC	NC	NC	NC	1,27	*	
8036686	FBXO17	AK021860	NC	-1,24	NC	-1,25	NC	-1,49	*	-1,31	-1,24	-1,37	*
7925996	FBXO18	NM_032807	NC	NC	-1,21	NC	NC	1,46	*	NC	NC	1,21	
7985053	FBXO22	NM_147188	1,21	NC	NC	NC	NC	1,23		1,27	NC	1,39	*
8130032	FBXO30	NM_032145	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	
7974473	FBXO34	NM_017943	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8084947	FBXO45	NM_001105573	NC	NC	1,20	NC	NC	1,35		NC	NC	1,63	*
8037647	FBXO46	NM_001080469	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,29		NC	NC	-1,30	*
8052742	FBXO48	NM_001024680	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	1,22	NC	1,29	*
8120271	FBXO9	AK095307	NC	1,22	1,58	NC	NC	NC	NC	1,22	1,32	1,75	*
8127128	FBXO9	NM_033480	-1,23	-1,20	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*
8163784	FBXW2	NM_012164	NC	NC	NC	1,22	NC	1,24	*	NC	NC	1,22	*
8114709	FCHSD1	NM_033449	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	1,29	NC	1,26	
7950248	FCHSD2	NM_014824	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7914075	FCN3	NM_003665	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7984470	FEM1B	NM_015322	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
8107208	FER	NM_005246	NC	NC	NC	NC	NC	1,24		NC	NC	1,34	*
8051427	FEZ2	NM_005102	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
8142580	FEZF1	NM_001024613	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	NC	
8088485	FEZF2	NM_018008	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,21	*
8027854	FFAR1	NM_005303	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8027860	FFAR3	NM_005304	-1,34	NC	NC	NC	-1,55	-1,45		-1,60	-1,55	-1,52	*
8078066	FGD5	NM_152536	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8111993	FGF10	NM_004465	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8004408	FGF11	NM_004112	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*
8092750	FGF12	NM_021032	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
8168463	FGF16	NM_003868	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7960397	FGF23	NM_020638	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,27	
7960407	FGF6	NM_020996	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
7935892	FGF8	NM_033163	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,29	*
8123342	FGFR1OP	NM_007045	NC	NC	NC	1,21	NC	1,30	*	NC	NC	1,20	*
7954492	FGFR1OP2	NM_015633	NC	NC	NC	1,29	NC	1,39	*	1,31	1,24	1,43	*
7925480	FH	NM_000143	NC	NC	NC	NC	NC	1,24		NC	NC	1,36	*
8097829	FHDC1	NM_033393	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8164632	FIBCD1	NM_032843	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,31	*
8121429	FIG4	NM_014845	1,23	NC	NC	NC	1,27	1,40		NC	NC	1,35	*
8007154	FKBP10	NM_021939	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8138834	FKBP14	NM_017946	NC	NC	NC	NC	NC	1,27		1,26	NC	1,31	*
8040530	FKBP1B	NM_054033	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC	
8035494	FKBP8	NM_012181	-1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	NC	-1,37	*
8125316	FKBPL	NM_022110	-1,25	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	-1,25	NC	NC	
8178749	FKBPL	NM_022110	-1,25	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	-1,25	NC	NC	
8117567	FKSG83	NM_032030	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8131140	FLJ00049	ENST00000313156	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*
7989953	FLJ11506	NM_024666	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*
8033455	FLJ2184	ENST00000327607	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26		NC	NC	-1,38	*
8071523	FLJ26056	ENST00000306779	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8074330	FLJ26056	ENST00000306779	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8074737	FLJ26056	ENST00000306779	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
7995334	FLJ26245	XM_001128232	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8030578	FLJ26850	ENST00000377006	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*
8076584	FLJ30901	AK056490	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8017704	FLJ32065	NR_026903	-1,27	-1,43	-1,27	1,38	1,32	1,57	*	NC	NC	1,24	
8005444	FLJ35934	ENST00000407600	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	-1,39	*
8052624	FLJ36848	AK094167	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,42	*
7942771	FLJ38894	AK096213	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,23		NC	NC	-1,30	*
7977452	FLJ39632	ENST00000400192	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	-1,22	*
8074168	FLJ39632	ENST00000400192	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	-1,27	-1,27	*
7997832	FLJ40448	ENST00000333666	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7939581	FLJ41423	AK123417	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	
7911796	FLJ42875	NR_024371	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	-1,30	*
7974900	FLJ43390	AK125380	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,21	*
8153273	FLJ43860	NM_207414	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
8063869	FLJ44790	AK126744	NC	NC	1,28	NC	NC	-1,44	*	NC	NC	NC	
8070321	FLJ45139	ENST00000380931	NC	NC	1,27	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
8004948	FLJ45455	NM_207386	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,24	*
8099754	FLJ45721	ENST00000382007	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
8012893	FLJ45831	AK127731	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	NC	
8156103	FLJ46321	NM_001001670	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	
7970597	FLJ46358	AK128225	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
7931140	FLJ46361	NR_003570	NC	NC	NC	-1,31	NC	-1,40	*	-1,23	-1,20	-1,25	*
8164627	FLJ46836	ENST00000358748	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	

7940851	FLRT1	NM_013280	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7976073	FLRT2	NM_013231	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8030339	FLT3LG	NM_001459	NC	NC	-1,24	-1,23	-1,27	-1,31	-1,22	-1,27	-1,62 *	NC
7992744	FLYWCHI	NM_032296	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC	NC
7907271	FMO2	NM_001460	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
7919314	FMO5	NM_001461	1,21	NC	1,24	NC	NC	1,25	1,34	1,26	1,54 *	NC
8170326	FMR1	NM_002024	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC
8010832	FN3KRP	NM_024619	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *	NC	NC	1,30	NC
7969060	FNDC3A	NM_001079673	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC
8051187	FNDC4	NM_022823	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	NC
7943226	FOLR4	NM_001080486	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,38 *	NC
7949532	FOSL1	NM_005438	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	-1,25	NC	NC	NC
7901311	FOX2	NM_004474	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	NC
7997726	FOXF1	NM_001451	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,25 *	NC
7973745	FOXG1	NM_005249	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
8109901	FOXJ1	NM_012188	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,34 *	NC
7931348	FOXJ2	NM_207426	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,34 *	NC
7953699	FOXJ2	NM_018416	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,35	-1,28	-1,22	-1,54 *	NC
7997735	FOXJ1	NM_005250	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	NC
8091032	FOXJ2	NM_023067	-1,29	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
7966189	FOXN4	NM_213596	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,28	NC
8119444	FOXP4	NM_001012426	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,21	-1,29	NC	-1,30 *	NC
8065576	FOXS1	NM_004118	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC
8130837	FRMD1	NM_024919	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC	NC
7941260	FRMD8	NM_031904	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
7957043	FRS2	NM_006654	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	1,29	1,27	1,30 *	NC
8114119	FSTL4	NM_015082	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,26 *	NC
8171917	FTHL17	NM_031894	-1,21	-1,20	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,27	NC
8166712	FTHL19	ENST00000402402	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,38 *	NC	NC	-1,39 *	NC
8107576	FTMT	NM_177478	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC	NC
8017437	FTSJ3	NM_017647	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	1,37 *	NC
8119198	FTSJD2	NM_015050	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,21	NC
7917156	FUBP1	NM_003902	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,33 *	NC
8129974	FUCA2	NM_032020	NC	1,21	1,29	NC	NC	NC	1,26	1,32	1,51 *	NC
7913712	FUSIP1	NM_006625	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,22	NC	1,42 *	NC
8039947	FUSIP1	NM_006625	NC	NC	1,20	NC	NC	1,22 *	1,24	NC	1,46 *	NC
8023184	FUSSEL18	AY669508	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,31 *	NC
8033054	FUT3	NM_000149	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC
8084146	FXR1	NM_001013439	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *	NC
7951966	FXYD2	NM_001127489	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,24 *	NC
8027770	FXYD7	NM_022006	-1,27	NC	-1,48	NC	-1,27	NC	-1,49	NC	-1,57 *	NC
7950885	FZD4	NM_012193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
8047487	FZD7	NM_003507	NC	NC	NC	NC	1,20	-1,22 *	NC	NC	NC	NC
8133030	GABPA	NM_002040	NC	NC	NC	1,35	NC	1,29	1,34	1,30	1,53 *	NC
7988687	GABPB1	NM_005254	NC	NC	NC	NC	1,25	1,35 *	NC	NC	1,38 *	NC
8100131	GABRA4	NM_000809	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,20	NC
8115651	GABRB2	NM_021911	NC	1,22	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,24	NC
8167573	GAGE12B	NM_001127345	NC	-1,26	NC	-1,27	NC	-1,45 *	-1,29	-1,32	-1,28	NC
8167575	GAGE12B	NM_001127345	NC	NC	1,38	NC	NC	-1,48 *	NC	NC	NC	NC
7942064	GAL	NM_015973	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,32 *	NC
8141459	GAL3ST4	NM_024637	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,22	NC	-1,24	-1,38 *	NC
7983616	GALK2	NM_001001556	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *	NC
8051298	GALNT14	NM_024572	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,22 *	NC
7965357	GALNT4	NM_003774	NC	NC	NC	NC	NC	1,49 *	NC	1,26	1,62 *	NC
8045835	GALNT5	NM_014568	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
8098328	GALNT7	NM_017423	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *	NC
7975324	GALNTL1	NM_020692	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
8078155	GALNTL2	NM_054110	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
8021818	GALR1	NM_001480	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,23 *	NC
8072941	GALR3	NM_003614	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,37 *	NC
8157858	GAPVD1	NM_015635	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC
7978653	GARNL1	NM_014990	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,27	NC	1,35 *	NC
8132070	GARS	NM_002047	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	NC
8070102	GART	NM_000819	NC	NC	NC	1,26	NC	1,30	1,33	NC	1,37 *	NC
8072216	GAS2L1	NM_006478	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	-1,21	NC	-1,32 *	NC
8067521	GATA5	NM_080473	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,33 *	NC
8088958	GBE1	NM_000158	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,32 *	NC
7917532	GBP2	NM_004120	NC	NC	NC	1,30	1,22	1,33 *	NC	1,23	1,35 *	NC
8059864	GBX2	NM_001485	NC	-1,24	NC	NC	1,23	-1,35 *	NC	NC	-1,28 *	NC
8072931	GCAT	NM_014291	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC	NC
8142740	GCCI	NM_024523	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC
8123910	GCM2	NM_004752	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,22	NC
8116835	GCNT2	NM_145649	1,25	NC	1,43	NC	NC	NC	1,26	NC	1,52 *	NC
7984001	GCNT3	NM_004751	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	-1,23	NC	-1,23	NC
8155802	GDA	NM_004293	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC	NC
8062796	GDAP1L1	NM_024034	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
7918955	GDAP2	NM_001135589	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC
7933372	GDF10	NM_004962	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,21 *	NC
7933366	GDF2	NM_016204	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,22	NC
7956551	GEFT	NM_182947	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC

## Anexo 2

8029617	GEMIN7	NM_024707	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,33 *	NC	NC	NC
8040440	GEN1	NM_182625	NC	NC	NC	NC	NC	1,42 *	1,31	1,21	1,69 *
8016128	GFAP	NM_002055	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,35 *
8112622	GFM2	NM_032380	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,36 *
8123976	GFOD1	NM_018988	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8064676	GFRA4	NM_145762	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,32 *
8000284	GGA2	NM_015044	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8036494	GGN	NM_152657	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8006638	GGNBP2	NM_024835	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,25 *
8105121	GHR	NM_000163	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8066189	GHRH	NM_021081	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
8085293	GHRL	NR_024138	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *
8049199	GIGYF2	NM_001103147	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	1,29 *
8034827	GIPC1	NM_005716	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8121749	GJA1	NM_000165	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8121132	GJA10	NM_032602	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
7970439	GJA3	NM_021954	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,26 *
7899939	GJA4	NM_002060	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,37 *
7987310	GJD2	NM_020660	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,30 *
8014969	GJD3	NM_152219	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,27 *
7933073	GJD4	NM_153368	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8166632	GK	NM_001128127	NC	1,20	1,35	NC	NC	NC	NC	1,31	1,39 *
8174103	GK	NM_001128127	NC	1,26	1,40	NC	NC	NC	NC	1,24	1,43 *
8091120	GK5	NM_001039547	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *	1,39	1,30	1,52 *
7984517	GLCE	NM_015554	NC	NC	1,34	NC	NC	NC	1,21	NC	1,53 *
7956430	GLI1	NM_005269	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8148607	GLI4	NM_138465	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7957260	GLIPR1	NM_006851	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
7916304	GLIS1	NM_147193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,29 *
7992956	GLIS2	NM_032575	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,23
7917676	GLMN	NM_053274	NC	NC	NC	NC	1,25	1,30 *	1,28	1,28	1,37 *
7959834	GLT1D1	NM_144669	NC	NC	1,43	NC	NC	NC	NC	1,23	1,47 *
8165032	GLT6D1	NM_182974	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7962349	GLT8D3	NM_173601	NC	NC	-1,34	1,36	NC	1,47 *	1,25	NC	NC
7896917	GLTPD1	NM_001029885	NC	NC	-1,23	-1,22	NC	NC	-1,32	-1,22	-1,38 *
8003948	GLTPD2	NM_001014985	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *
8029939	GLTSCR1	NM_015711	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,23	-1,29	NC	-1,44 *
8029958	GLTSCR2	NM_015710	NC	NC	-1,30	NC	NC	1,32 *	NC	NC	NC
7934852	GLUD1	NM_005271	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,24 *
7979260	GMFB	NM_004124	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,35 *
8035714	GMIP	NM_016573	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,21	-1,21	-1,34 *
8117225	GMNN	NM_015895	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,36 *	NC	NC	NC
7903703	GNAI3	NM_006496	NC	NC	1,24	1,23	NC	NC	1,21	1,34	1,46 *
8092251	GNB4	NM_021629	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *
7925250	GNG4	NM_001098721	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8167797	GNL3L	NM_019067	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	1,28	NC	1,27 *
8114787	GNPDA1	NM_005471	NC	NC	NC	NC	1,22	1,26 *	1,29	NC	1,26
7965812	GNPTAB	NM_024312	NC	NC	NC	1,22	NC	1,34 *	1,23	NC	1,22
7964701	GNS	NM_002076	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
8078569	GOLGA4	NM_002078	NC	NC	NC	1,36	NC	1,30 *	1,35	NC	1,40 *
7987248	GOLGA8A	NR_027409	NC	-1,33	NC	1,53	1,56	1,50 *	1,49	NC	1,68 *
7987279	GOLGA8B	NR_027410	NC	-1,31	NC	1,58	1,56	1,49 *	1,52	NC	1,66 *
7982284	GOLGA9P	ENST00000342314	NC	NC	NC	1,41	NC	1,31	1,43	1,34	1,45 *
8089930	GOLGB1	NM_004487	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8091954	GOLIM4	NM_014498	NC	NC	NC	1,28	1,25	1,21	1,33	1,26	1,44 *
7954388	GOLT1B	NM_016072	NC	NC	NC	NC	1,20	1,37 *	NC	1,20	1,27
8129181	GOPC	NM_020399	NC	NC	NC	1,27	NC	1,25	NC	NC	1,49 *
7907213	GORAB	NM_152281	NC	NC	NC	1,35	NC	1,46 *	1,37	1,36	1,41
8007904	GOSR2	NM_004287	1,23	NC	NC	NC	NC	1,20 *	NC	NC	1,31 *
8027521	GPATCH1	NM_018025	NC	NC	-1,28	1,30	NC	1,41 *	NC	NC	NC
7924327	GPATCH2	NM_018040	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
7906194	GPATCH4	AK055377	NC	NC	-1,26	-1,37	-1,25	NC	-1,41	-1,36	-1,48 *
7955348	GPD1	NM_005276	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8045816	GPD2	NM_001083112	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,31 *
8148591	GPIHBP1	NM_178172	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,30
8041000	GPN1	NM_007266	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7966321	GPN3	NM_016301	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *	NC	NC	1,29 *
8050924	GPR113	NM_001145168	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,25 *
7931500	GPR123	NM_001083909	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,23
7940959	GPR137	NM_020155	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	-1,24	NC	-1,26 *
7999916	GPR139	NM_001002911	NC	-1,28	NC	NC	NC	-1,37 *	-1,23	-1,24	-1,39 *
8171284	GPR143	NM_000273	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,23 *
8045216	GPR148	NM_207364	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,25 *
8106976	GPR150	NM_199243	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,32 *
7949796	GPR152	NM_206997	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,39 *
8056837	GPR155	NM_001033045	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
7922108	GPR161	NM_153832	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8045075	GPR17	NM_005291	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,29 *
8148841	GPR172A	NM_024531	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,21 *
8011808	GPR172B	NM_001104577	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,21 *



8167758	GPR173	NM_018969	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8080958	GPR27	NM_018971	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
7899343	GPR3	NM_005281	-1,22	-1,28	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,34 *
8130785	GPR31	NM_005299	NC	-1,29	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,32 *
7908812	GPR37L1	NM_004767	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	-1,21	NC	-1,33 *
8171624	GPR64	NM_001079858	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8094093	GPR78	NM_080819	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7951040	GPR83	NM_016540	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	-1,33	NC
7903355	GPR88	NM_022049	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,31 *
7954065	GPRC5A	NM_003979	NC	NC	1,29	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	NC
8115941	GPRIN1	NM_052899	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8159318	GPSM1	NM_001145638	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,27 *
8125373	GPSM3	NM_022107	NC	NC	NC	-1,34	NC	-1,31	-1,46	-1,28	-1,45 *
8179987	GPSM3	NM_022107	NC	NC	NC	-1,34	NC	-1,31	-1,46	-1,28	-1,45 *
8148902	GPT	NM_005309	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7979658	GPX2	NM_002083	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8027701	GRAMD1A	NM_020895	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,32	-1,23	-1,31 *
7898916	GRHL3	NM_198173	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,22 *
7961422	GRIN2B	NM_000834	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,24	NC	NC	-1,25 *
8018220	GRIN2C	NM_000835	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8030022	GRIN2D	NM_000836	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,35 *
8172504	GRIPAP1	NM_020137	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,32 *
7970325	GRK1	NM_002929	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7930894	GRK5	NM_005308	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	1,24	NC	NC
8133904	GRM3	NM_000840	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8125805	GRM4	NM_000841	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,22 *
8077472	GRM7	NM_181874	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,20 *
8142718	GRM8	NM_001127323	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8021461	GRP	NM_002091	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7998414	GS85	XM_001723621	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	-1,21	NC	-1,21
7981106	GSC	NM_173849	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,23 *
8074384	GSC2	NM_005315	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,27
7961399	GSG1	NM_001080554	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,22 *
8150112	GSR	NM_000637	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8065817	GSS	NM_000178	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
7968260	G SX1	NM_145657	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,21
7980523	GTF2A1	NM_015859	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8150103	GTF2E2	NM_002095	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *	NC	NC	1,26 *
8140170	GTF2IRD2	NM_173537	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,30 *
8133549	GTF2IRD2B	NM_001003795	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,29 *
8057933	GTF3C3	NM_012086	NC	NC	1,26	NC	NC	1,37 *	1,37	NC	1,44 *
7925823	GTPBP4	NM_012341	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	1,32 *
7915404	GUCA2A	NM_033553	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,37 *
7951437	GUCY1A2	NM_000855	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	-1,22	-1,33 *
8094876	GUF1	NM_021927	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	1,27	NC	1,45 *
8127364	GUSBL2	NR_003660	NC	NC	NC	1,35	1,20	1,33 *	1,25	NC	NC
8082560	H1FOO	NM_153833	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8090555	H1FX	NM_006026	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	-1,23	NC	-1,43 *
8101945	H2AFZ	NM_002106	NC	NC	NC	1,27	NC	1,20	NC	1,24	1,37 *
8174283	H2BFWT	NM_001002916	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8018439	H3F3B	NM_005324	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
8128522	HACE1	NM_020771	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
8085608	HACL1	NM_012260	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,25 *
7992049	HAGHL	NM_207112	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7906197	HAPLN2	NM_021817	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8035639	HAPLN4	NM_023002	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,22
8108603	HARS2	NM_012208	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *	1,25	NC	1,56 *
7983123	HAUS2	NM_018097	NC	NC	-1,56 *	1,25	NC	1,38 *	NC	NC	NC
8132843	HAUS6	NM_017645	NC	NC	NC	1,26	1,36	1,25	NC	1,30	1,47 *
8160284	HAUS6	NM_017645	NC	NC	NC	1,31	NC	1,39 *	1,23	NC	1,26
8035236	HAUS8	NM_033417	NC	NC	1,32 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
7991772	HBQ1	NM_005331	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,31
8129706	HBSIL	NM_006620	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
7918437	HBXIP	NM_006402	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
8165995	HCCS	NM_005333	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	1,28 *
7998902	HCFC1R1	NM_017885	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7958158	HCFC2	NM_013320	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,28	NC	1,37 *
7911657	hCG_1647286	AK094642	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,29 *
7972672	hCG_2011852	NM_001146197	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8067546	hCG_2018279	NR_024470	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,23 *
8065278	hCG_2019139	AK056971	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7930205	hCG_2024410	NM_001143909	NC	NC	NC	NC	NC	1,45 *	NC	NC	1,27
8039504	hCG_2039146	NM_001145176	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	-1,30 *
8111930	hCG_2039148	AK075204	1,26	NC	-1,44	NC	NC	1,41 *	1,29	NC	NC
8162674	hCG_2045089	NR_026847	NC	NC	NC	NC	NC	-1,56 *	-1,22	-1,24	-1,38 *
8089911	HCLS1	NM_005335	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
7899643	HCRTR1	NM_001525	NC	NC	NC	-1,24	-1,24	-1,21	NC	NC	-1,27 *
8129045	HDAC2	NM_001527	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8015914	HDAC5	NM_005474	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7962659	HDAC7	NM_015401	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *

## Anexo 2

8173531	HDAC8	NM_018486	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	NC	1,27 *
7925364	HEATR1	NM_018072	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,34 *
7995456	HEATR3	NM_182922	NC	NC	NC	1,23	1,21	1,22	1,28	NC	1,34 *
7980024	HEATR4	NM_203309	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7978492	HEATR5A	NM_015473	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	1,37 *
7978449	HECTD1	NM_015382	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,36 *
8132465	HECW1	NM_015052	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8101467	HELQ	NM_133636	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
8098571	HELT	NM_001029887	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,28 *
7982154	HERC2P2	NR_002824	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,28
7986569	HERC2P2	NR_002824	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,23
7986701	HERC2P2	NR_002824	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,23
8001099	HERC2P4	NR_002827	NC	-1,24	NC	NC	NC	1,32 *	NC	NC	NC
8096385	HERC3	NM_014606	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	1,21	NC	1,28 *
8123929	HERV-FRD	NM_207582	NC	NC	1,20	NC	-1,25	-1,54 *	NC	-1,23	-1,28 *
7911750	HES5	NM_001010926	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,22 *
7990211	HEXA	NM_000520	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7904717	HFE2	NM_213653	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8130824	HGC6.3	AB016902	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7976669	HHIP1	NM_001127258	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,30 *
8156538	HIATL1	NM_032558	NC	NC	1,35 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,44 *
8057719	HIBCH	NM_014362	NC	NC	NC	NC	1,26	1,28	1,24	1,20	1,50 *
8029784	HIF3A	NM_152794	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7955719	HIGD1A	NM_001099668	-1,26	NC	NC	1,32	1,25	1,25 *	NC	1,22	NC
8016640	HILSI	NR_024193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,21
8121886	HINT3	NM_138571	NC	1,29	NC	1,34	1,21	1,50 *	1,21	1,56	1,63 *
8117382	HIST1H2BD	NM_021063	NC	-1,25	-1,45 *	NC	NC	NC	NC	-1,31	-1,27 *
8117600	HIST1H2BN	NM_003520	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8117614	HIST1H2BO	NM_003527	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8117760	HLA-F	NM_001098479	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8177717	HLA-F	NM_018950	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8179019	HLA-F	NM_018950	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8091354	HLTF	NM_003071	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	1,28	NC	1,41 *
7944401	HMB5	NM_000190	-1,21	-1,35	-1,49	1,45	1,37	1,56 *	NC	NC	NC
8158637	HMCN2	AL834139	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8118794	HMGAI	NM_145899	NC	1,24	NC	NC	-1,24	-1,21	NC	NC	-1,26 *
8078248	HMGBI	NM_002128	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,23 *
8067206	HMGBI1L1	NM_001008735	NC	NC	NC	1,35	1,24	NC	NC	NC	1,29 *
8103728	HMGGB2	NM_001130688	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	1,28	1,30 *
8106280	HMGCR	NM_000859	NC	1,20	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,31 *
8111941	HMGCS1	NM_001098272	NC	1,21	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,44 *
8176191	HMGNI	NM_004965	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
7931181	HMX3	NM_001105574	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,30
8045499	HNMT	NM_006895	NC	NC	1,31	NC	NC	NC	NC	NC	1,48 *
7955890	HNRNPA1	NM_031157	NC	NC	1,45	NC	1,22	NC	1,22	1,21	1,62 *
8138670	HNRNPA2B1	NM_031243	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,26 *
7971920	HNRNPA3	NM_194247	NC	NC	1,31	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8046590	HNRNPA3	NM_194247	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,30 *
8080991	HNRNPA3	NM_194247	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
8110450	HNRNPAB	NM_031266	NC	NC	NC	1,21	NC	1,26 *	1,26	1,20	1,37 *
8047059	HNRNPC	NM_031314	NC	NC	1,40	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7912552	HNRNPCL1	NM_001013631	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8116297	HNRNPH1	NM_005520	NC	NC	NC	1,26	NC	1,23	1,29	1,25	1,47 *
8168852	HNRNPH2	NM_019597	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,23 *
7927854	HNRNPH3	NM_012207	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *
8025429	HNRNPM	NM_005968	NC	NC	NC	1,23	NC	1,22 *	NC	NC	1,30 *
7913571	HNRNPR	NM_001102398	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7925565	HNRNPU	NM_031844	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7948814	HNRNPUL2	NM_001079559	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	1,40 *
7901765	HOOK1	NM_015888	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	1,21	NC	1,40 *
8146243	HOOK3	NM_032410	NC	NC	1,32	1,22	1,30	NC	NC	1,21	1,47 *
8138708	HOXA1	NM_005522	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
8138770	HOXA13	NM_000522	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8138721	HOXA3	NM_153631	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,20
8016433	HOXB1	NM_002144	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,49 *
8016457	HOXB5	NM_002147	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,23 *
8016463	HOXB6	NM_018952	NC	1,25	NC	NC	-1,25	-1,22	NC	NC	-1,30 *
7955869	HOXC8	NM_022658	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8046564	HOXD1	NM_024501	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8046530	HOXD11	NM_021192	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8046527	HOXD12	NM_021193	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,45 *	NC	NC	NC
8046524	HOXD13	NM_000523	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,24 *
7899841	HPCA	NM_002143	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8040238	HPCAL1	NM_134421	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7967212	HPD	NM_002150	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8027728	HPN	NM_182983	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,25 *
8083282	HPS3	NM_032383	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,26 *
8101449	HPSE	NM_001098540	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,45 *
7935613	HPSE2	NM_021828	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8149652	HR	NM_005144	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,21

8077851	HRH1	NM_001098213	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
8151942	HRSP12	NM_005836	NC	NC	NC	1,26	1,31	1,59	*	1,28	NC	1,39	
8099388	HS3ST1	NM_005114	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
7994052	HS3ST2	NM_006043	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7994260	HS3ST4	NM_006040	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,27	*
7998634	HS3ST6	NM_001009606	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,34	*
7997520	HSPB1	NM_001537	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	1,30	*
7996563	HSD11B2	NM_000196	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
8007263	HSD17B1	NM_000413	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*
7939465	HSD17B12	NM_016142	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,43	*
8107532	HSD17B4	NM_000414	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,46	*
7995007	HSD3B7	NM_025193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8157233	HSDL2	NM_032303	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	1,22	NC	NC	1,43	*
8080987	HSP90AB5P	AY956766	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,21	
7986407	HSP90B2P	AY956768	NC	NC	1,43	*	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	
7936516	HSPA12A	NM_025015	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,23	
7926299	HSPA14	NM_016299	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
8108015	HSPA4	NM_002154	NC	NC	NC	1,30	NC	1,28	*	NC	1,21	1,39	*
8164165	HSPA5	NM_005347	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	1,21	
8114455	HSPA9	NM_004134	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
8133721	HSPB1	NM_001540	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*
7916356	HSPB11	NM_016126	NC	NC	NC	1,26	1,21	1,26	*	NC	1,27	1,25	*
8036151	HSPB6	NM_144617	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,22	
7912692	HSPB7	NM_014424	NC	NC	1,35	NC	NC	-1,54	*	NC	NC	NC	
8007208	HSPB9	NM_033194	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,21	
8090030	HSPBAP1	NM_024610	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	1,22	NC	1,36	*
8065242	HSPC072	AF161557	NC	NC	NC	NC	-1,54	-1,66	*	NC	-1,44	-1,55	
7913450	HSPG2	NM_005529	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	-1,27	*
7970864	HSPH1	NM_006644	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	1,37	NC	NC	1,48	*
8170166	HTATSF1	NM_014500	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,39	NC	NC	1,41	*
8127692	HTR1B	NM_000863	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*
7913566	HTR1D	NM_000864	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,23	
8120983	HTR1E	NM_000865	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8084284	HTR3E	NM_182589	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	
7898594	HTR6	NM_000871	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,37	*
8087611	HYAL1	NM_007312	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,22	*
8087596	HYAL3	NM_003549	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*
8002492	HYDIN	NM_032821	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,23	*
8162313	LARS	NM_013417	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	1,30	*
7909815	LARS2	NM_018060	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*
8127787	IBTK	NM_015525	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	
8017547	ICAM2	NM_001099786	NC	-1,24	-1,35	NC	1,25	1,28	*	NC	NC	NC	
8033987	ICAM3	NM_002162	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
7911993	ICMT	NM_012405	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	
8058552	IDH1	NM_005896	NC	NC	NC	NC	1,30	1,37	1,24	NC	NC	1,59	*
8124848	IER3	NM_003897	-1,55	NC	-2,06	NC	-1,44	NC	-1,76	-1,58	-2,11	*	
8178435	IER3	NM_003897	-1,53	NC	-2,08	NC	-1,48	NC	-1,77	-1,66	-2,05	*	
8179704	IER3	NM_003897	-1,55	NC	-2,06	NC	-1,44	NC	-1,76	-1,58	-2,11	*	
8023175	IER3IP1	NM_016097	NC	1,26	1,23	NC	NC	NC	NC	1,35	1,30	*	
8164554	IER5L	NM_203434	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7976436	IFI27L1	NM_145249	-1,29	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	-1,25	NC	-1,20	
8007446	IFI35	NM_005533	NC	-1,28	-1,64	*	NC	1,22	1,37	*	NC	NC	
7902553	IFI44	NM_006417	1,23	NC	1,36	1,34	1,61	1,32	1,65	1,48	1,79	*	
8056285	IFIH1	NM_022168	NC	NC	NC	1,21	1,25	1,24	1,32	1,29	1,48	*	
7937335	IFITM1	NM_003641	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
7945368	IFITM5	NM_001025295	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	-1,25	
8068238	IFNAR2	NM_207585	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	NC	NC	NC	
8160360	IFNB1	NM_002176	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
8089314	IFT57	NM_018010	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	1,43	*
8091737	IFT80	NM_020800	1,23	1,22	NC	NC	NC	1,25	1,42	1,28	1,50	*	
7967933	IFT88	NM_175605	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*	1,28	NC	1,40	*
7989770	IGDCC3	NM_004884	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,31	*
7937774	IGF2AS	NM_016412	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,24	*
7998601	IGFALS	NM_001146006	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,20	
8132694	IGFBP1	NM_000596	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,24	
8007100	IGFBP4	NM_001552	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	-1,23	NC	NC	-1,29	*
8161265	IGFBPL1	NM_001007563	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,29	*
8029779	IGFL1	NM_198541	NC	NC	1,21	NC	-1,22	-1,40	*	NC	NC	NC	
8000184	IGSF6	NM_005849	1,21	NC	1,36	NC	NC	NC	1,25	NC	1,36	*	
7921492	IGSF9	NM_001135050	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8163023	IKBKAP	NM_003640	NC	NC	NC	1,21	NC	1,28	*	NC	NC	1,23	*
8146171	IKKBK	NM_001556	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7956105	IKZF4	NM_022465	NC	NC	NC	-1,32	-1,37	-1,48	*	-1,29	-1,24	-1,36	
8107970	IL13	NM_002188	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,26	*
7997801	IL17C	NM_013278	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,37	*
8127024	IL17F	NM_052872	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7942300	IL18BP	NM_173042	NC	NC	NC	-1,26	-1,24	-1,27	-1,25	-1,24	-1,41	*	
8054722	IL1B	NM_000576	-1,89	NC	-2,33	-1,92	-3,01	-1,49	-3,62	-2,91	-3,46	*	
8044552	IL1F5	NM_173170	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
8054731	IL1F8	NM_014438	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	

## Anexo 2

8044541	IL1F9	NM_019618	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8129837	IL20RA	NM_014432	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7956251	IL23A	NM_016584	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24
7909271	IL24	NM_006850	NC	NC	-1,38	NC	NC	NC	NC	-1,39	-1,30	-1,49 *
8026272	IL27RA	NM_004843	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8028607	IL28A	NM_172138	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,33
8036702	IL28B	NM_172139	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,46 *
8173444	IL2RG	NM_000206	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8107878	IL3	NM_000588	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
7967226	IL31	NM_001014336	1,20	NC	1,26	-1,32	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	NC
7997128	IL34	NM_152456	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,29 *
8095680	IL8	NM_000584	-2,70	NC	-2,92	NC	-2,30	NC	-1,20	-3,04	-2,14	-3,50 *
8114256	IL9	NM_000590	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7922018	ILD2R2	NM_199351	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,26 *
8025697	ILF3	NM_012218	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	1,21	NC	1,26 *
8059969	ILKAP	NM_030768	1,39	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,28	NC	1,36 *
8007826	IMPS	NM_175882	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,23 *
8020668	IMPACT	NM_018439	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8150908	IMPAD1	NM_017813	NC	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	1,27	1,38 *
7930208	INA	NM_032727	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8011797	INCA1	NM_213726	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8048639	INH4	NM_002191	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,23
8044927	INHBB	NM_002193	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,26 *
7931479	INPP5A	NM_005539	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7915101	INPP5B	NM_005540	NC	NC	NC	1,32	NC	NC	1,39 *	1,33	NC	1,28
8165171	INPP5E	NM_019892	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,25 *
8061303	INSM1	NM_002196	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,27 *
7973943	INSM2	NM_032594	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,29 *
7921155	INSRR	NM_014215	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,27 *
8144894	INTS10	NM_018142	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,27 *	NC	1,23	1,33 *
8017283	INTS2	NR_026641	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *	NC	NC	1,29
8105545	IPO11	NM_016338	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7938313	IPO7	NM_006391	NC	NC	NC	1,23	1,23	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7962085	IPO8	NM_006390	NC	NC	NC	1,29	NC	NC	1,31 *	1,24	NC	1,33 *
7908732	IPO9	NM_018085	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,22 *
7915775	IPP	NM_005897	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	1,46 *	NC	NC	NC
8089954	IQCB1	NM_001023570	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,36 *
7921033	IQGAP3	NM_178229	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7952893	IQSEC3	BC024764	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8067820	IQSEC3	BC024764	NC	-1,22	NC	NC	1,24	NC	-1,24	NC	NC	-1,26 *
7985166	IREB2	NM_004136	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,21
8037723	IRF2BP1	NM_015649	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
7973618	IRF9	NM_006084	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,27	NC	NC
8104314	IRX1	NM_024337	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8001449	IRX3	NM_024336	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	-1,42 *
7995668	IRX5	NM_005853	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,23 *
7980425	ISM2	NM_199296	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8039511	ISOC2	NM_024710	NC	NC	NC	-1,29	NC	NC	-1,28	-1,24	NC	-1,37 *
8090533	ISY1	NM_020701	NC	NC	NC	1,39	1,21	NC	1,45 *	1,41	1,27	1,54 *
7953111	ITFG2	NM_018463	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8046695	ITGA4	NM_000885	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8046861	ITGAV	NM_002210	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,38 *
7969861	ITGBL1	NM_004791	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8080466	ITIH3	NM_002217	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,21 *
7931977	ITIH5	NM_030569	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8173106	ITIH5L	NM_198510	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,23 *
8060611	ITPA	NM_033453	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,28	NC	1,30 *
8077376	ITPR1	NM_001099952	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7961900	ITPR2	NM_002223	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8050719	ITSN2	NM_006277	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
7982723	IVD	NM_002225	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
7922889	IVNS1ABP	NM_006469	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,44 *
8055021	IWS1	NM_017969	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,35 *
8122744	IYD	NM_203395	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8154178	JAK2	NM_004972	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,40 *
8143341	JHDM1D	NM_030647	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,33 *	1,21	NC	1,28 *
7927784	JMJD1C	NM_032776	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7997746	JPH3	NM_020655	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8032465	JSRP1	NM_144616	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8035445	JUND	NM_005354	NC	NC	-1,23	-1,39	-1,30	NC	-1,31	-1,50	-1,30	-1,62 *
7929932	KAZALD1	NM_030929	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,25 *
8144317	KBTBD11	NM_014867	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,22	-1,29 *
8138922	KBTBD2	NM_015483	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC
8043105	KCMF1	NM_020122	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
7953274	KCNA1	NM_000217	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	-1,28 *
7918444	KCNA10	NM_005549	NC	NC	NC	-1,21	-1,23	NC	-1,40 *	NC	-1,23	-1,35 *
7938738	KCNC1	NM_004976	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7903867	KCNC4	NM_004978	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,23	NC	-1,28 *
8174469	KCNE1L	NM_012282	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,40 *
8040265	KCNF1	NM_002236	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,24

8021900	KCNG2	NM_012283	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,22
8003149	KCNG4	NM_172347	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,24
8015554	KCNH4	NM_012285	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,24
8043552	KCNIP3	NM_013434	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		NC	NC	-1,23
7921533	KCNJ10	NM_002241	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC
8030044	KCNJ14	NM_170720	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	NC
8076072	KCNJ4	NM_152868	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC
7945146	KCNJ5	NM_000890	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,33	*	NC	NC	NC
7906496	KCNJ9	NM_004983	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,26
8052018	KCNK12	NM_022055	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,26
8126173	KCNK16	NM_001135105	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,28
7909730	KCNK2	NM_001017425	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
7940971	KCNK4	NM_033310	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC
8026900	KCNN1	NM_002248	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC
8107408	KCNN2	NM_021614	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC
7937847	KCNQ1DN	NR_024627	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,28
8152946	KCNQ3	NM_004519	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,24
8066475	KCNS1	NM_002251	NC	1,22	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	NC
8159283	KCNT1	NM_020822	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,24
8154124	KCNV2	NM_133497	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC
8142830	KCP	NM_199349	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,21
7966202	KCTD10	NM_031954	NC	NC	-1,30	1,28	NC	1,45	*	1,26	NC	NC
7992685	KCTD5	NM_018992	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,26
8169109	KCTD9P2	ENST00000313275	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,30	NC	1,27
8073015	KDELR3	NM_006855	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC		NC	-1,24	-1,26
8154333	KDM4C	NM_015061	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,28
7960221	KDM5A	NM_005056	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,36
7923453	KDM5B	NM_006618	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,21
8177232	KDM5D	NM_001146705	NC	NC	NC	1,21	1,22	1,23		1,25	NC	1,45
8004671	KDM6B	NM_001080424	NC	NC	-1,37	-1,33	-1,31	-1,40		NC	NC	-1,41
8159854	KIAA0020	NM_014878	NC	NC	NC	1,22	NC	1,20		1,20	NC	1,39
8138686	KIAA0087	NR_022006	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC
7913110	KIAA0090	BC034589	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,26
8013696	KIAA0100	NM_014680	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,21
8152782	KIAA0196	NM_014846	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	1,32
8093961	KIAA0232	NM_014743	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	1,35
8119582	KIAA0240	NM_015349	NC	NC	-1,21	*	NC	1,22	*	NC	NC	NC
8163275	KIAA0368	NM_001080398	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	1,32
7994308	KIAA0556	NM_015202	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,20
7986960	KIAA0574	NM_015307	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,26
8011945	KIAA0753	NM_014804	NC	NC	NC	NC	NC	1,22		1,21	NC	1,31
8121161	KIAA0776	NM_015323	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	1,24	NC	1,35
7928408	KIAA0913	NM_015037	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23
8104350	KIAA0947	NM_015325	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,24
8127903	KIAA1009	NM_014895	NC	NC	NC	NC	NC	1,29		1,22	NC	1,41
8022767	KIAA1012	NM_014939	NC	NC	NC	1,23	NC	NC		1,20	NC	1,37
7958216	KIAA1033	NM_015275	NC	NC	1,24	NC	NC	NC		NC	NC	1,39
8154953	KIAA1045	NM_015297	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
8143441	KIAA1147	NM_001080392	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC
8115895	KIAA1191	NM_020444	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC
7985317	KIAA1199	NM_018689	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	-1,22	NC	-1,42
8062492	KIAA1219	NM_020336	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,21
7973727	KIAA1305	NM_025081	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,30	*	NC	NC	-1,22
8091550	KIAA1328	NM_020776	NC	NC	NC	1,22	1,23	1,34	*	1,33	NC	1,40
8089659	KIAA1407	NM_020817	NC	NC	NC	1,28	NC	1,24		1,32	NC	1,31
8151842	KIAA1429	NM_015496	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,24
8154254	KIAA1432	NM_020829	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,29
8021496	KIAA1468	NM_020854	NC	NC	NC	NC	NC	1,21		1,23	NC	1,37
8048763	KIAA1486	NM_020864	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,31
7899821	KIAA1522	NM_020888	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC
8089372	KIAA1524	NM_020890	1,32	NC	NC	NC	NC	1,21		1,25	NC	1,37
8025237	KIAA1543	NM_001080429	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
8120378	KIAA1586	NM_020931	NC	NC	1,30	NC	NC	NC		NC	1,25	1,40
7963121	KIAA1602	NM_001037806	NC	NC	-1,21	-1,22	NC	NC		-1,24	NC	-1,40
7907882	KIAA1614	NM_020950	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,20
8076561	KIAA1654	AB051441	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC		NC	NC	-1,36
7968898	KIAA1704	BC039586	NC	NC	NC	1,22	NC	1,29	*	1,24	1,22	NC
7943126	KIAA1731	NM_033395	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,22	NC	1,30
7975926	KIAA1737	NM_033426	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	NC	NC	NC
8042168	KIAA1841	NM_001129993	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	NC	NC	1,29
7959087	KIAA1853	NM_194286	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
8032829	KIAA1881	NM_001080400	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,22
8121525	KIAA1919	NM_153369	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,36
8124798	KIAA1949	NM_133471	NC	NC	-1,35	NC	NC	NC		-1,26	NC	-1,42
8050128	KIDINS220	NM_020738	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,34
8079237	KIF15	NM_020242	NC	NC	1,21	NC	NC	NC		NC	NC	1,29
8018164	KIF19	BC093631	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,34
7929078	KIF20B	NM_016195	NC	NC	NC	1,34	NC	1,51	*	1,32	NC	1,45
7994620	KIF22	NM_007317	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	1,26	NC	NC
8003583	KIF22	NM_007317	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	1,26	NC	NC

## Anexo 2

7977216	KIF26A	NM_015656	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
7932911	KIF5B	NM_004521	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	1,23	1,32	*	
7906307	KIRREL	NM_018240	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7923621	KISS1	NM_002256	NC	NC	NC	NC	1,22	-1,28	*	NC	NC	-1,29	*
8024070	KISS1R	NM_032551	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,23	*
7977127	KLC1	NM_001130107	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	1,28	NC	1,28	*
8034578	KLF1	NM_006563	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
8142971	KLF14	NM_138693	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,24	*
8032365	KLF16	NM_031918	NC	NC	NC	-1,34	-1,23	-1,35		-1,36	NC	-1,53	*
7900957	KLF17	NM_173484	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7974214	KLHDC1	NM_172193	NC	NC	-1,30	1,31	NC	1,51	*	NC	NC	NC	
8136177	KLHDC10	D87454	NC	NC	-1,29	NC	1,24	1,47	*	1,25	NC	NC	
7974229	KLHDC2	NM_014315	NC	NC	NC	1,32	1,23	1,44	*	1,31	NC	NC	
8119648	KLHDC3	NM_057161	-1,23	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	
7898533	KLHDC7A	NM_152375	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8074106	KLHDC7B	NM_138433	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		-1,23	NC	-1,28	*
7923762	KLHDC8A	NM_018203	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,30	*
7923489	KLHL12	NM_021633	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7896779	KLHL17	NM_198317	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*
8079517	KLHL18	NM_025010	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7907445	KLHL20	NM_014458	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,25	*	
8084219	KLHL24	NM_017644	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	1,21	
7991173	KLHL25	NM_022480	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
7977567	KLHL33	BC146951	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	NC	
7950492	KLHL35	NM_001039548	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
8094625	KLHL5	NM_015990	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	1,44	*
8131815	KLHL7	NM_018846	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,23	1,22	1,28	*
8101624	KLHL8	NM_020803	NC	-1,23	NC	NC	1,31	1,29		NC	NC	1,39	*
8038633	KLK1	NM_002257	NC	NC	1,28	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	NC	
8038643	KLK15	NM_017509	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
8030753	KLK3	NM_001030047	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
8038683	KLK6	NM_002774	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,22	*
8001682	KLKBL4	NM_001080492	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,20	*
7915841	KNCN	NM_001097611	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,24	*
7959408	KNTC1	NM_014708	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,22	NC	1,22	
8089999	KPNA1	NR_026698	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
8121632	KPNA5	NM_002269	NC	-1,25	-1,22	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC	
8007992	KPNB1	NM_002265	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7961865	KRAS	NM_033360	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	1,25	1,28	*
7992758	KREMEN2	NM_172229	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,25	*
8140878	KRIT1	NM_194455	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,28	*	
8015366	KRT14	NM_000526	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
8013465	KRT16	NM_005557	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8015376	KRT16	NM_005557	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,24	*
8015293	KRT32	NM_002278	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8015257	KRT33A	NM_004138	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,42	*	NC	NC	NC	
8015312	KRT36	NM_003771	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*
7963438	KRT71	NM_033448	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
7963396	KRT75	NM_004693	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
7963359	KRT83	NM_002282	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7963366	KRT85	NM_002283	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,21	
8070771	KRTAP10-1	NM_198691	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,75	*	-1,20	-1,29	-1,43	*
8069153	KRTAP10-10	NM_181688	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26		NC	-1,21	-1,43	*
8069156	KRTAP10-11	NM_198692	NC	NC	NC	-1,27	-1,22	-1,55	*	-1,32	-1,38	-1,65	*
8069168	KRTAP10-12	NM_198699	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,47	*	NC	NC	NC	
8070777	KRTAP10-2	NM_198693	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,56	*	NC	NC	-1,43	*
8069142	KRTAP10-4	NM_198687	NC	NC	NC	-1,31	NC	-1,55	*	-1,26	-1,22	-1,57	*
8070786	KRTAP10-6	NM_198688	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	-1,27	-1,24	*
8069146	KRTAP10-7	NM_198689	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,40		-1,24	-1,23	-1,57	*
8069148	KRTAP10-8	NM_198695	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,23	*	-1,23	NC	-1,27	*
8015187	KRTAP1-1	NM_030967	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*
8015196	KRTAP1-1	NM_030967	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,35	*
8019578	KRTAP1-1	NM_030967	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,35	*
8070791	KRTAP12-2	NM_181684	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,28	*
8069161	KRTAP12-3	NM_198697	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	
8070789	KRTAP12-4	NM_198698	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	
8069818	KRTAP13-3	NM_181622	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,21	
8068136	KRTAP13-4	NM_181600	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,31	*
8015252	KRTAP17-1	NM_031964	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,21	
8069822	KRTAP19-1	NM_181607	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
8069831	KRTAP19-3	NM_181609	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,26	*	NC	NC	NC	
8068157	KRTAP20-4	NR_023342	NC	NC	NC	-1,29	NC	-1,33	*	-1,25	NC	-1,23	
8015206	KRTAP2-1	NM_001123387	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	-1,41	*
8015208	KRTAP2-1	NM_001123387	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	-1,41	*
8015210	KRTAP2-4	NM_033184	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,33	*
8015214	KRTAP2-4	NM_033184	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,29	*
8019574	KRTAP2-4	NM_033184	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,29	*
8019576	KRTAP2-4	NM_033184	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,33	*
8015173	KRTAP3-1	NM_031958	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,27	*
8019593	KRTAP3-1	NM_031958	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,27	*

8015247	KRTAP4-1	NM_033060	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,57 *
8015221	KRTAP4-11	NM_033059	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,40 *	-1,26	-1,24	-1,35 *
8019699	KRTAP4-11	NM_033059	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8015223	KRTAP4-12	NM_031854	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,28 *
8019565	KRTAP4-12	NM_031854	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,28 *
8015242	KRTAP4-2	NM_033062	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,34 *
8015240	KRTAP4-3	NM_033187	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,24	-1,34 *
8015236	KRTAP4-4	NM_032524	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	-1,36	-1,53 *
8015232	KRTAP4-5	NM_033188	NC	1,24	NC	-1,30	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	-1,22
8015218	KRTAP4-8	NM_031960	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,32 *	-1,22	-1,25	-1,32 *
8015230	KRTAP4-8	NM_031960	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	-1,21	-1,23	-1,39 *
8007112	KRTAP4-9	NM_001146041	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,32	-1,22	-1,26	-1,51 *
8007115	KRTAP4-9	NM_001146041	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	-1,25	-1,25	-1,36 *
7937698	KRTAP5-1	NM_001005922	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
7942267	KRTAP5-10	NM_001012710	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,32 *
7950078	KRTAP5-11	NM_001005405	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,23 *
7945657	KRTAP5-4	NM_001012709	NC	NC	NC	-1,29	NC	NC	-1,41 *	-1,32	-1,32	-1,42 *
7937700	KRTAP5-5	NM_001001480	NC	NC	NC	-1,29	-1,25	NC	-1,46 *	-1,23	-1,34	-1,44 *
7942255	KRTAP5-7	NM_001012503	NC	NC	NC	-1,36	NC	NC	-1,23	-1,26	-1,28	-1,34 *
8069852	KRTAP6-1	NM_181602	NC	NC	-1,23	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *
8069848	KRTAP6-2	NM_181604	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,22
8068145	KRTAP6-3	NM_181605	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,31 *
8069868	KRTAP7-1	NM_181606	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8007127	KRTAP9-3	NM_031962	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	-1,28
8007130	KRTAP9-8	NM_031963	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7966810	KSR2	NM_173598	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8081853	KTELC1	NR_024265	NC	NC	NC	1,24	1,22	1,41	1,21 *	1,31	1,24	1,34 *
8045539	KYNU	NM_003937	NC	NC	1,31	NC	1,26	NC	NC	NC	1,40	1,51 *
7984103	LACTB	NM_032857	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,21	1,24 *
7923347	LAD1	NM_005558	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,31 *
7953418	LAG3	NM_002286	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,28
8067409	LAM45	NM_005560	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,25 *
8142194	LAMB1	NM_002291	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8114861	LARS	NM_020117	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,22	NC	1,32 *
8173269	LAS1L	NM_031206	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7963174	LASS5	NM_147190	NC	NC	-1,24	NC	NC	1,27	*	NC	NC	NC
7994535	LAT	NM_014387	NC	NC	-1,27	NC	-1,26	NC	NC	NC	-1,24	-1,36 *
7994541	LAT	NM_014387	NC	-1,22	-1,34	NC	-1,20	NC	NC	-1,23	-1,46	-1,52 *
8133442	LAT2	NM_032464	NC	NC	NC	1,24	1,30	1,37	*	NC	1,21	1,37 *
7908968	LAX1	NM_017773	-1,20	-1,22	-1,32	1,23	1,23	1,39	*	NC	NC	NC
8062461	LBP	NM_004139	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
7924603	LBR	NM_002296	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *	NC	NC	1,35 *
7935855	LBX1	NM_006562	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
8053183	LBX2	NM_001009812	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7905528	LCE1A	NM_178348	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
7920193	LCE1C	NM_178351	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7905523	LCE1D	NM_178352	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
7905517	LCE1F	NM_178354	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,26
7905507	LCE2A	NM_178428	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,37 *
7905505	LCE2B	NM_014357	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	-1,42 *
7905503	LCE2C	NM_178429	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	-1,36	-1,35 *
7920185	LCE3D	NM_032563	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	-1,21	-1,30 *
7920182	LCE3E	NM_178435	NC	NC	NC	-1,22	-1,27	-1,29	*	NC	NC	-1,28 *
7905510	LCE4A	NM_178356	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7905483	LCE5A	NM_178438	NC	-1,34	NC	NC	1,31	-1,26	NC	NC	NC	-1,32 *
7988077	LCMT2	NM_014793	-1,33	-1,20	NC	1,22	NC	1,35	*	NC	NC	NC
8165271	LCN10	NM_001001712	NC	-1,29	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	NC
8095581	LCORL	NM_153686	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	1,25 *
8115734	LCP2	NM_005565	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8055406	LCT	NM_002299	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7938777	LDHA	NM_005566	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7961693	LDHB	NM_002300	NC	NC	-1,39	NC	NC	1,42	*	NC	-1,26	NC
7898707	LDLRAD2	NM_001013693	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,33 *
8175539	LDOC1	NM_012317	NC	NC	-1,56	NC	-1,29	-1,25	NC	-1,43	-1,52	-1,95 *
7924682	LEFTY2	NM_003240	NC	NC	NC	-1,34	NC	-1,24	NC	-1,30	-1,25	-1,35 *
7905559	LELP1	NM_001010857	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,27 *
7988838	LEO1	NM_138792	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
7925361	LGALS8	NM_006499	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	-1,23 *
8013450	LGALS9B	NM_001042685	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,28	NC	-1,26	NC	-1,37 *
8005458	LGALS9C	NM_001040078	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,22	NC	-1,25	NC	-1,37 *
8149685	LGI3	NM_139278	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8038278	LHB	NM_000894	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	-1,23	-1,31	-1,33
8085195	LHFPL4	NM_198560	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,20
8163936	LHX6	NM_014368	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7972737	LIG4	NM_002312	NC	NC	NC	1,20	NC	1,46	*	1,30	NC	1,22
8064168	LIME1	NM_017806	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,36 *
7899167	LIN28	NM_024674	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,23 *
7947221	LIN7C	NM_018362	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	1,21	1,23 *
8032478	LINGO3	NM_001101391	-1,21	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *
7991566	LINS1	NM_018148	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*	NC	NC	NC

## Anexo 2

8021169	LIPG	NM_006033	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7956876	LLPH	NM_032338	NC	NC	-1,64 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,44 *
8048703	LLPH	NM_032338	NC	NC	1,23	1,29	1,25	1,27	1,20	1,35	1,56 *	*
7984892	LMAN1L	NM_021819	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC	-1,29 *
8116020	LMAN2	NM_006816	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC	NC
8111533	LMBRD2	NM_001007527	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,22	NC	NC	1,43 *
8077490	LMCD1	NM_014583	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	NC
7946354	LMO1	NM_002315	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	-1,24 *
7923386	LMOD1	NM_012134	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC	NC
8038093	LMTK3	NM_001080434	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,24 *
7921936	LMX1A	NM_177398	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	-1,25 *
8157922	LMX1B	NM_002316	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
7954310	LOC100008588	NR_003286	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8082254	LOC100125556	NR_024251	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,28 *
8139458	LOC100128364	AK096229	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,56 *	-1,24	-1,23	NC	-1,38 *
8116593	LOC100128372	XM_001716747	-1,25	NC	NC	1,36	1,29	NC	NC	NC	NC	1,36 *
8158542	LOC100128501	AK092192	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC	-1,28 *
8137962	LOC100129484	AK125308	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	NC	-1,27
8106352	LOC100129566	XM_001718519	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7938416	LOC100129827	ENST00000324928	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	NC
7979876	LOC100130174	XM_001716215	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
7898568	LOC100130193	AK096102	-1,25	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
7919301	LOC100130236	AK128227	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,55 *	-1,27	-1,25	NC	-1,34 *
8153486	LOC100130274	XM_001715033	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC	-1,27 *
7998265	LOC100130285	AK097604	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	NC	-1,28 *
7982339	LOC100130857	AK097050	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	NC
7981317	LOC100130955	XM_001723690	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC	-1,22
8132811	LOC100130988	XM_001714376	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
8063209	LOC100131496	NR_024594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	-1,23
8152642	LOC100131726	NR_024479	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8049950	LOC100131763	AK094921	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC	NC
8023526	LOC100132992	XR_037051	NC	NC	NC	1,24	1,29	1,30 *	NC	NC	NC	NC
8031514	LOC100133142	XM_001718400	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,23	NC	NC	-1,40 *
7990827	LOC100133746	AK097452	NC	NC	1,34	NC	-1,23	-1,44 *	NC	-1,28	NC	NC
8169350	LOC100134364	XM_001713810	-1,35	NC	-1,33	1,34	NC	1,34 *	NC	NC	NC	NC
7986444	LOC145757	AK056534	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC	NC
8038785	LOC147645	BC032383	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	-1,22	NC	-1,29 *
8059985	LOC151174	NR_026925	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC	NC
8176091	LOC158960	BC009467	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC	NC
7953518	LOC171220	U72518	NC	NC	NC	1,25	NC	1,34 *	NC	NC	NC	1,24
8124551	LOC222699	NR_002936	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7973080	LOC254028	AK093210	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	NC
8109908	LOC257358	AK093725	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *
8004955	LOC284033	AK095052	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	NC
8032588	LOC284422	NM_001136503	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	NC
8094226	LOC285550	NM_001145191	NC	NC	NC	1,33	NC	1,35 *	1,39	NC	NC	1,34
8122146	LOC285735	NR_026969	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC	NC
8048071	LOC29034	NR_002763	NC	NC	1,21	NC	-1,21	-1,29 *	NC	NC	NC	NC
7917466	LOC339524	NR_026988	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC	NC
8073546	LOC339674	NR_024355	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC	NC
8045332	LOC339742	XM_929883	NC	NC	NC	NC	1,27	-1,46 *	NC	NC	NC	-1,26
8172713	LOC347549	XM_938042	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	-1,33 *
8019754	LOC348262	NM_207368	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,28 *
8099084	LOC348926	NR_024253	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8015730	LOC388387	NR_027254	NC	NC	1,30	-1,27	NC	-1,38 *	NC	NC	NC	NC
8010583	LOC388428	NR_027255	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC	-1,22
8052622	LOC388955	NR_003131	NC	NC	NC	1,38	1,21	1,34 *	1,39	1,35	1,29 *	*
8091039	LOC389151	NM_001013650	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	NC
8071042	LOC389832	AK124122	NC	-1,35	1,31	NC	1,25	-1,51 *	NC	NC	NC	NC
7926117	LOC389936	AK131480	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC	-1,21
7985032	LOC391532	XR_017653	NC	NC	1,41	NC	NC	-1,53 *	NC	NC	NC	NC
8111216	LOC391769	XM_936343	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8162191	LOC392364	BC086877	NC	1,20	NC	NC	-1,25	-1,31 *	NC	NC	NC	-1,27 *
8043320	LOC400965	AK098018	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
7981777	LOC400968	AK127783	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC	-1,26
8085272	LOC401052	ENST00000383808	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	-1,30 *
8137802	LOC401296	ENST00000382528	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC	-1,41 *
8171024	LOC401622	AK127459	1,28	NC	1,32	NC	NC	NC	NC	1,44	NC	1,50 *
8080998	LOC440015	XR_015234	NC	NC	NC	NC	NC	-1,46 *	NC	NC	NC	-1,29
7985418	LOC440297	AK125436	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	-1,21
7985459	LOC440297	AK125436	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	-1,21
7990928	LOC440297	AK125436	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	-1,21
7993108	LOC440337	AK094332	NC	-1,21	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8005777	LOC440419	BC112354	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,24 *
8009430	LOC440461	NR_027283	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC	-1,41 *
7919580	LOC440570 //	AK125737	NC	NC	-1,37	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,55 *
7919596	LOC440570 //	AK125737	NC	NC	-1,37	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,55 *
8139828	LOC441239	ENST00000340779	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC	NC
7925703	LOC441931	NR_003134	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC	NC
8069503	LOC441956	NM_001013729	NC	NC	NC	NC	NC	-1,48 *	NC	NC	NC	-1,24



7917593	LOC492303	NR_002830	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC		
8076744	LOC554174	BC009388	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,29	*	
8160431	LOC554202	NR_027054	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC		
8170007	LOC644538	ENST00000330288	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC		
8155944	LOC645225	XM_001720758	NC	-1,25	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
8058333	LOC645805	XR_038227	-1,28	-1,30	-1,40	*	NC	1,30	NC	NC	NC	-1,34	*	
8058458	LOC645978	XR_018837	NC	NC	NC	NC	NC	-1,50	*	NC	-1,20	-1,36		
8040547	LOC646049	XM_944578	NC	NC	NC	NC	1,26	1,25	*	NC	1,23	NC		
7986565	LOC646071	XM_929032	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC		
8030974	LOC646508	ENST00000338885	-1,46	-1,22	NC	NC	NC	-1,48	*	-1,35	-1,25	-1,35		
7922351	LOC646870	ENST00000367716	NC	-1,35	-1,55	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	-1,64	*	
8100308	LOC728220	ENST00000391570	NC	NC	1,27	-1,26	-1,37	-1,64	*	-1,30	-1,21	-1,29		
8022653	LOC728606	NR_024259	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC		
8007641	LOC728675	XM_001127987	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,27	*	
8079131	LOC729085	NM_001129908	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC		
7993296	LOC729993	NM_001145204	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,30	*	
8027744	LOC731797	AF452715	NC	NC	1,28	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	NC		
8005555	LOC79999	ENST00000399086	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	-1,23	NC	-1,30	*	
8013327	LOC79999	ENST00000399086	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	-1,23	NC	-1,30	*	
7927099	LOC84856	NR_026827	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	-1,20	-1,26	-1,30	*	
8054866	LOC84931	NR_027181	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,25		
7952339	LOC85389	NR_001453	-1,38	-1,40	-2,09	*	1,58	1,60	1,56	*	NC	NC	-1,34	
8103079	LOC90826	AK292904	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	NC	1,36	*	
8102371	LOC91431	NM_001099776	NC	NC	NC	1,24	NC	1,42	*	1,28	NC	1,49	*	
8033002	LONP1	NM_004793	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	NC	NC		
7995421	LONP2	NM_031490	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	1,34	*	
8169603	LONRF3	NM_001031855	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,32	*	
7935553	LOXL4	NM_032211	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,31	*	
7995697	LPCAT2	NM_017839	NC	NC	1,31	NC	1,26	NC		1,23	NC	1,48	*	
7987230	LPCAT4	NM_153613	NC	NC	NC	-1,24	-1,23	NC	NC	NC	-1,20	-1,30	*	
7924107	LPGAT1	NM_014873	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,27	*	
7902565	LPIN2	NM_012302	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	NC		
8040340	LPIN1	NM_145693	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC		
8097920	LRAT	NM_004744	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC		
8028112	LRFN3	NM_024509	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		-1,22	-1,21	-1,30	*	
7974109	LRFN5	NM_152447	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
7934783	LRIT1	NM_015613	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,32	*	NC	NC	NC		
7954436	LRMP	NM_006152	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,22	*	
7947744	LRP4	NM_002334	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,24	*	
7964846	LRRC10	NM_201550	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,28	*	
7933484	LRRC18	NM_001006939	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,25		
8165453	LRRC26	NM_001013653	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		NC	NC	-1,27	*	
8001971	LRRC29	NM_012163	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,28	*	NC	NC	NC		
7917996	LRRC39	NM_144620	NC	NC	NC	1,23	NC	1,28		1,39	NC	1,48	*	
7916910	LRRC40	NM_017768	NC	NC	NC	1,23	NC	1,26	*	1,22	NC	1,32	*	
7911862	LRRC47	NM_020710	NC	1,22	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,23	*	
7906973	LRRC52	NM_001005214	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC		
7917015	LRRC53	ENST00000294635	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC		
7940002	LRRC55	NM_001005210	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC		
8137215	LRRC61	NM_001142928	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		NC	NC	-1,24	*	
8049530	LRRFIP1	NM_001137550	1,31	1,70	1,59	-1,66	NC	NC		-1,27	1,56	1,71	*	
8049538	LRRFIP1	NM_001137550	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,30		-1,24	-1,27	-1,42	*	
8049542	LRRFIP1	NM_001137550	NC	NC	1,36	1,29	1,33	1,35		1,43	1,52	1,85	*	
8049544	LRRFIP1	NM_001137550	1,34	1,21	1,29	NC	NC	1,28		1,28	1,23	1,66	*	
8086150	LRRFIP2	NM_006309	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,24	1,22	1,27	*	
7954810	LRRK2	NM_198578	NC	NC	1,32	NC	1,29	1,24		1,21	1,33	1,63	*	
7948794	LRRN4CL	NM_203422	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,29	*	
8088174	LRTM1	NM_020678	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	-1,29	NC		
7942315	LRTOMT	NM_001145309	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,25	*	
7914917	LSM10	NM_032881	NC	1,25	NC	NC	NC	1,23	*	NC	1,20	NC		
8027592	LSM14A	NM_001114093	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,22	*	
8063814	LSM14B	NM_144703	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,29	*	
8063835	LSM14B	NM_144703	1,24	1,48	1,53	NC	NC	NC		1,32	1,36	1,61	*	
8097679	LSM6	NM_007080	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,33	*	
8135688	LSM8	NM_016200	NC	1,23	NC	NC	NC	1,35	*	1,29	1,28	1,27		
8177976	LTA	NM_000595	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	-1,28	-1,34	*	
7973694	LTB4R2	NM_019839	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*	
7980152	LTBP2	NM_000428	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,25	*	
7998174	LUC7L	NM_018032	1,25	NC	NC	NC	NC	1,31		1,46	NC	1,41	*	
8136539	LUC7L2	NM_016019	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,21	*	
8153359	LY6D	NM_003695	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,26	*	
8148572	LY6E	NM_002346	NC	NC	-1,40	NC	NC	NC		-1,23	NC	-1,46	*	
8178586	LY6G6C	NM_025261	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC		NC	-1,21	-1,25	*	
8153380	LY6H	NM_001135655	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC		
8056113	LY75	NM_002349	NC	NC	NC	NC	NC	1,21		NC	NC	1,34	*	
8146500	LYN	NM_002350	NC	NC	1,24	NC	NC	NC		NC	1,22	1,27	*	
8055314	LYPD1	NM_144586	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC		
8037422	LYPD5	NM_001031749	NC	NC	NC	NC	NC	-1,47	*	-1,22	-1,21	-1,25		
8045674	LYPD6	NM_194317	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,20	*	
8125748	LYPLA2P1	NR_001444	NC	NC	-1,30	NC	NC	NC		-1,21	-1,21	-1,33	*	

## Anexo 2

8107859	LYRM7	NM_181705	NC	NC	NC	NC	NC	1,39 *	1,24	NC	1,21
7925257	LYST	NM_000081	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
7912292	LZIC	NM_032368	NC	NC	NC	1,21	NC	1,37 *	1,31	NC	1,42 *
8086555	LZTFL1	NM_020347	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	NC	1,26 *
8071466	LZTR1	NM_006767	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8032909	M6PRBP1	NM_005817	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,29 *
7900235	MACF1	NM_012090	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8119874	MAD2L1BP	NM_014628	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	1,33 *	NC	NC	NC
8023941	MADCAM1	NM_130760	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,30 *
8093462	MAEA	NM_001017405	NC	NC	NC	1,23	NC	1,23 *	1,27	NC	NC
8153409	MAFA	NM_201589	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,23 *
8175724	MAGEA12	NM_005367	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,44 *	NC	NC	NC
8175747	MAGEA3	NM_005362	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8170531	MAGEA4	NM_001011548	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	NC
8170412	MAGEA8	NM_005364	NC	-1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8170407	MAGEA9	NM_005365	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,21
8175611	MAGEA9	NM_005365	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,21
8166611	MAGEB2	NM_002364	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8166569	MAGEB6B	XM_001715138	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,25
7916274	MAGOH	NM_002370	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8156167	MAK10	NM_024635	NC	NC	1,38 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,39 *
8145782	MAK16	NM_032509	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,27 *
7941272	MALAT1	NR_002819	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8054479	MALL	NM_005434	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	-1,24 *
8021418	MALT1	NM_006785	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,31 *
8159448	MAMDC4	NM_206920	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8038150	MAMSTR	NM_182574	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,25 *
8106098	MAP1B	NM_005909	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
8046360	MAP1D	NM_199227	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,25 *
7925504	MAP1LC3C	NM_001004343	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8025351	MAP2K7	NM_145185	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,27 *	1,21	NC	NC
8054997	MAP3K2	NM_006609	NC	NC	NC	NC	1,20	1,24	NC	NC	1,42 *
8123274	MAP3K4	NM_005922	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8129804	MAP3K5	NM_005923	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8128260	MAP3K7	NM_145331	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *
7949172	MAP4K2	NM_004579	NC	NC	-1,29	-1,37	-1,28	-1,24	-1,45	-1,36	-1,59 *
8051707	MAP4K3	NM_003618	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,29 *
8043945	MAP4K4	NM_145686	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7978997	MAP4K5	NM_198794	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8175369	MAP7D3	NM_024597	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,39	NC	1,39 *
8076978	MAPK11	NM_002751	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8119000	MAPK14	NM_001315	NC	NC	NC	NC	1,24	1,39 *	NC	NC	1,43 *
8148674	MAPK15	NM_139021	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8021199	MAPK4	NM_002747	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,27 *
7927389	MAPK8	NM_002750	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7939613	MAPK8IP1	NM_005456	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8116402	MAPK9	NM_139068	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8164177	MAPKAP1	NM_001006617	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8101925	MAPKSP1	NM_021970	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	1,27	1,27 *
8061772	MAPRE1	NM_012325	NC	NC	1,30	NC	NC	NC	NC	1,30	1,48 *
8058849	MARCH4	NM_020814	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7929247	MARCH5	NM_017824	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8104463	MARCH6	NM_005885	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,21 *
8045919	MARCH7	NM_022826	NC	NC	NC	1,23	NC	1,28 *	NC	NC	1,21 *
7956623	MARCH9	NM_138396	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
8029642	MARK4	NM_031417	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,31 *
7956443	MARS	NM_004990	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,20 *
7997158	MARVELD3	NM_001017967	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,21
8124648	MASIL	NM_052967	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8178293	MASIL	NM_052967	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8179593	MASIL	NM_052967	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8092661	MASP1	NM_001879	NC	1,23	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8026063	MAST1	NM_014975	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8026926	MAST3	NM_015016	NC	NC	NC	-1,30	-1,26	-1,26 *	NC	NC	-1,21
7994637	MAZ	NM_001042539	NC	NC	NC	-1,26	-1,25	-1,39 *	-1,36	NC	-1,39 *
7956470	MBD6	NM_052897	NC	NC	-1,44	-1,23	NC	NC	-1,29	NC	-1,59 *
8113059	MBLAC2	NM_203406	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,27 *
8124166	MBOAT1	NM_001080480	NC	NC	NC	1,23	NC	1,26	1,27	NC	1,45 *
8039166	MBOAT7	NM_024298	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,27	NC	-1,29 *
8161249	MCART1	NM_033412	-1,29	NC	NC	1,39	NC	1,36 *	NC	NC	1,29
8092328	MCCC1	NM_020166	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	1,21	NC	1,37 *
8106068	MCCC2	NM_022132	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	1,21	NC	1,34 *
8177601	MCCC2	NM_022132	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	1,21	NC	1,34 *
8052934	MCEE	NM_032601	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,31 *
8051998	MCFD2	NM_139279	NC	NC	-1,28	1,27	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8073296	MCHR1	NM_005297	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	-1,22 *
8069332	MCM3APAS	NR_002776	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8141395	MCM7	NM_005916	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *	NC	NC	1,21
8129218	MCM9	NM_153255	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
7978801	MDGA2	NM_001113498	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC

7964810	MDM1	NM_017440	1,21	NC	NC	NC	NC	1,24	1,32	1,33	1,40	*	
7956989	MDM2	NM_002392	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	1,32	*	
8127854	ME1	NM_002395	NC	NC	NC	NC	1,20	1,37	NC	NC	1,52	*	
8021208	ME2	NM_002396	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	
8126474	MEA1	NM_014623	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	
8003922	MED11	NM_001001683	1,25	NC	NC	NC	NC	1,46	*	1,47	NC	1,27	*
7943176	MED17	NM_004268	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,22	NC	1,21	*	
7954503	MED21	NM_004264	NC	NC	NC	1,24	NC	1,26	*	NC	NC	NC	NC
8129522	MED23	NM_004830	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	
8030498	MED25	NM_030973	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	
8112890	MED27	NM_004269	NC	NC	-1,36	*	NC	1,34	*	NC	NC	NC	NC
8094271	MED28	NM_025205	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,25	*	
7971550	MED4	NM_014166	NC	NC	NC	1,26	1,23	1,30	*	1,28	1,28	1,35	*
7979931	MED6	NM_005466	NC	NC	NC	1,28	NC	1,25	*	NC	NC	1,26	*
7915516	MED8	NM_201542	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	*	NC	NC	NC	NC
8005260	MED9	NM_018019	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	
7998940	MEFV	NM_000243	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*	
7989887	MEGF11	NM_032445	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,49	*
8015821	MEOX1	NM_004527	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,21	*
7991332	MESP1	NM_018670	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,37	*	
8135601	MET	NM_001127500	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7957633	METAP2	NM_006838	-1,23	NC	1,21	1,26	NC	NC	NC	NC	1,35	*	
8011275	METT10D	NM_024086	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	NC	1,22	*
7936891	METTL10	NM_212554	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	
8097066	METTL14	NM_020961	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	1,23	NC	1,32	*
8085571	METTL6	NM_152396	NC	-1,22	-1,51	*	NC	1,53	*	NC	-1,24	NC	NC
7955441	METTL7A	NM_014033	NC	NC	NC	1,30	1,37	1,40	NC	NC	1,51	*	
7990873	MEX3B	NM_032246	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	NC
7912887	MFAP2	NM_002403	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,31	*
8109403	MFAP3	NR_024152	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	
8084045	MFN1	NM_033540	1,34	NC	NC	NC	NC	1,26	1,41	NC	1,43	*	
8083656	MFSD1	NM_022736	1,21	NC	NC	NC	1,22	NC	1,30	1,27	1,33	*	
8098769	MFSD7	NM_032219	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	NC
8060061	MGC16025	NR_026664	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
8132707	MGC16075	ENST00000275513	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
8175256	MGC16121	NR_024607	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	
8103906	MGC24125	AK097110	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
8033662	MGC33407	NM_178525	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	NC
7995310	MGC34800	ENST00000319817	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
7935910	MGEA5	NM_012215	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,31	NC	1,26	*	
8028924	MIA	NM_006533	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,24	*
8020423	MIB1	NM_020774	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*	
8072962	MICALL1	NM_033386	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8131479	MIOS	NM_019005	NC	NC	1,23	NC	NC	1,21	1,30	NC	1,49	*	
8074070	MIOX	NM_017584	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	NC
7964177	MIP	NM_012064	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
8004144	MIS12	NM_024039	NC	NC	1,42	1,39	1,46	*	1,29	1,23	1,30	1,30	*
8054930	MKI67IP	NM_032390	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,27	*	
8064967	MKKS	NM_018848	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	NC	NC	1,44	*	
8076241	MKLI	NM_020831	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	
8136259	MKLN1	NM_013255	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	1,23	NC	1,40	*	
8032392	MKKN2	NM_199054	NC	NC	NC	-1,31	NC	NC	-1,27	-1,21	-1,30	*	
8016909	MKS1	NM_017777	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	NC	1,26	*
8033118	MLLT1	NM_005934	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8006788	MLLT6	NM_005937	-1,20	NC	-1,38	NC	NC	NC	-1,34	NC	-1,53	*	
8014702	MLLT6	NM_005937	-1,32	NC	-1,89	*	1,22	NC	NC	NC	-1,62	*	
8049487	MLPH	NM_024101	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8055672	MMADHC	NM_015702	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	
7951259	MMP10	NM_002425	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	
8071758	MMP11	NM_005940	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,21	*
7973336	MMP14	NM_004995	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8151686	MMP16	NM_005941	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
7897006	MMP23B	NM_006983	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,24	*
8144112	MNX1	NM_005515	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,25	*
8141676	MOGAT3	NM_178176	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,46	*	NC	NC	NC	NC
7956697	MON2	NM_015026	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8068460	MORC3	NM_015358	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,27	*	
8174253	MORF4L2	NM_001142418	NC	NC	NC	1,27	1,33	1,39	*	1,39	NC	1,21	*
8041561	MORN2	NM_001145450	NC	1,32	1,68	*	NC	-1,23	NC	NC	1,37	*	
8150879	MOS	NM_005372	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,29	*
8134880	MOSPD3	NM_023948	NC	NC	-1,31	NC	NC	NC	NC	NC	-1,57	*	
7967881	MPHOSPH8	NM_017520	NC	NC	NC	1,24	NC	1,41	*	1,30	NC	1,35	*
7967386	MPHOSPH9	NM_022782	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	1,26	NC	1,29	*
7932765	MPP7	NM_173496	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,23	1,29	*	
7921852	MPZ	NM_000530	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
8068192	MRAP	NM_178817	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
8120961	MRAP2	NM_138409	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,29	*
7951046	MRE11A	NM_005591	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,40	NC	1,47	*	
7950005	MRGPRF	NM_001098515	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,25	*
7947093	MRGPRX1	NM_147199	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,22	*

## Anexo 2

7938746	MRGPRX4	NM_054032	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
7967987	MRP63	NM_024026	NC	NC	NC	1,23	NC	1,31	*	1,22	1,20	1,23	*
8146448	MRPL15	NM_014175	-1,33	NC	NC	1,26	1,22	1,42	*	NC	NC	1,21	
7948424	MRPL16	NM_017840	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*	NC	1,21	NC	
7946267	MRPL17	NM_022061	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	
8109475	MRPL22	NM_014180	-1,27	NC	NC	1,31	NC	1,22	NC	NC	1,25	1,26	*
8090678	MRPL3	NM_007208	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,35	*
8132458	MRPL32	NM_031903	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	1,27	1,27	*
8041027	MRPL33	NM_004891	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7991209	MRPL46	NM_022163	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	1,28	NC	1,31	*
8092265	MRPL47	NM_020409	NC	NC	-1,44	*	1,25	1,33	*	NC	NC	NC	
7941164	MRPL49	NM_004927	NC	NC	-1,23	NC	1,22	1,32	*	NC	NC	NC	
7922462	MRPS14	NM_022100	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*
8159249	MRPS2	NM_016034	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8091037	MRPS22	AF321613	-1,21	-1,25	NC	NC	NC	-1,32	*	-1,29	NC	-1,28	
8016870	MRPS23	NM_016070	NC	1,24	NC	NC	NC	1,31	*	1,21	1,36	NC	
8085531	MRPS25	NM_022497	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,32	NC	1,42	*
8112570	MRPS27	NM_015084	NC	NC	NC	1,21	NC	1,27	*	NC	NC	NC	
8143433	MRPS33	NM_016071	NC	NC	NC	NC	-1,24	1,30	*	NC	NC	NC	
8044111	MRPS9	NM_182640	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,28	*
7898549	MRTO4	NM_016183	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	NC	1,21	
7940341	MS4A10	NM_206893	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8106633	MSH3	NM_002439	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	
8041888	MSH6	NM_000179	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	NC	NC	1,32	*
8007023	MSL1	NM_001012241	NC	NC	NC	-1,27	-1,25	-1,27	*	NC	NC	NC	
8059852	MSL3L2	NR_024322	NC	NC	1,24	1,39	1,24	1,41	*	1,47	1,24	1,75	*
7995834	MT1IP	NR_003669	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,40	*
7995776	MT3	NM_005954	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,28	*
8176219	MTCP1	NM_001018025	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*	1,28	NC	1,30	*
8151917	MTERFD1	NM_015942	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,34	*
7966046	MTERFD3	NM_001033050	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	1,31	NC	NC	
7903032	MTF2	NM_007358	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,25	*
7975045	MTHFD1	NM_005956	NC	NC	NC	1,23	NC	1,31	*	NC	NC	1,23	*
8170428	MTM1	NM_000252	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7982309	MTMR15	NM_014967	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	*	1,23	NC	1,22	
7970655	MTMR6	NM_004685	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*
8120698	MTO1	NM_133645	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	1,25	NC	1,25	*
7932834	MTPAP	NM_018109	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
8098705	MTRFIL	NM_019041	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
8130383	MTRF1L	NM_019041	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	1,35	*
8112857	MTX3	NM_001010891	NC	NC	1,40	NC	1,40	1,40	*	1,28	1,22	1,33	
7920642	MUC1	NM_001018016	NC	NC	1,22	-1,31	NC	-1,36	*	-1,28	NC	NC	
8135031	MUC12	AF147791	NC	NC	NC	NC	NC	-1,55	*	NC	NC	-1,39	*
8033674	MUC16	NM_024690	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,29	*
8118069	MUC21	NM_001010909	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,27	*
8179224	MUC21	NM_001010909	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,37	*
7945595	MUC6	NM_005961	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
7955963	MUCL1	NM_058173	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,23	*
8126860	MUT	NM_000255	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,30	*
8068697	MX2	NM_002463	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*
7911529	MXR48	NM_032348	-1,30	-1,23	NC	NC	NC	-1,38	NC	NC	NC	-1,39	*
7923534	MYBPH	NM_004997	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
8050423	MYCNOS	NR_026766	NC	NC	1,66	*	NC	-1,26	-1,78	*	NC	NC	
7988444	MYEF2	NM_016132	1,29	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	1,41	NC	1,41	*
7942118	MYEOV	NM_138768	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,32	NC	NC	NC	-1,44	*
8030582	MYH14	NM_001145809	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8019930	MYL12B	NM_033546	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
8061605	MYLK2	NM_033118	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
7994804	MYLPPF	NM_013292	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
8083794	MYNN	NM_018657	NC	NC	NC	1,27	NC	1,28	NC	NC	1,24	1,33	*
7988921	MYO5A	NM_000259	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7938730	MYOD1	NM_002478	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
7934434	MYOZ1	NM_021245	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8109315	MYOZ3	NM_001122853	-1,31	NC	1,21	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8037728	MYPOP	NM_001012643	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,36	*
8094719	N4BP2	NM_018177	NC	NC	NC	NC	1,24	1,41	*	NC	NC	1,24	
8083978	NAALADL2	NM_207015	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8026155	NACCI	NM_052876	NC	NC	NC	-1,29	-1,28	-1,26	NC	-1,33	-1,27	-1,35	*
8001876	NAE1	NM_001018159	NC	-1,20	-1,30	1,23	NC	1,33	*	1,20	NC	NC	
8042576	NAGK	NM_017567	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	1,31	NC	1,37	*
8037732	NANOS2	NM_001029861	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8156761	NANS	NM_018946	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	*	NC	NC	1,38	*
7945786	NAP1L4	NM_005969	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	1,31	*
8020149	NAPG	NM_003826	NC	NC	1,29	1,35	1,29	1,21	1,35	1,44	1,56	*	
8010804	NARF	NM_001038618	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	1,21	*
8097480	NARG1	NM_057175	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*
7968761	NARG1L	NM_024561	NC	NC	NC	NC	NC	1,42	*	1,25	NC	1,21	
7989347	NARG2	NM_024611	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7950683	NARS2	NM_024678	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	1,25	NC	1,26	
7940824	NAT11	NM_024771	NC	NC	-1,31	NC	NC	1,40	*	NC	NC	NC	

7974576	NAT12	NM_001011713	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	
8018209	NAT9	NM_015654	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
8047596	NBEAL1	NM_001114132	1,30	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	*	1,35	NC	1,48	*
8047606	NBEAL1	NM_001099273	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,22	
8151711	NBN	NM_002485	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21		NC	NC	1,36	*
7904574	NBPF16	NM_001102663	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*
7904976	NBPF16	NM_001102663	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7904999	NBPF16	NM_001102663	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7912808	NBPF16	NM_001102663	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7919438	NBPF16	NM_001102663	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
8007471	NBR1	NM_031858	NC	NC	-1,36	1,32	1,23	1,51	*	1,30	NC	NC	NC	
7953351	NCAPD2	NM_014865	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	NC	
8156718	NCBP1	NM_002486	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*
8093156	NCBP2	NM_007362	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	1,22	1,21	1,43	*	
8028600	NCCRP1	NM_001001414	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,34	*	
8059689	NCL	NM_005381	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	*	NC	NC	1,25	*	
8119435	NCR2	NM_004828	NC	-1,26	NC	NC	NC	-1,30		NC	-1,23	-1,36	*	
8030848	NCRNA00085	NR_024330	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,25	*	
8170024	NCRNA00086	NR_024359	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC		
8175308	NCRNA00087	NR_024493	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC		
7945177	NCRNA00167	NR_024233	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC		
8178324	NCRNA00171	NR_026751	1,27	NC	NC	NC	NC	1,20		1,34	NC	1,43	*	
7993467	NDE1	NM_001143979	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	1,27	*	
7964388	NDUFA4L2	NM_020142	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,27	*	
7980955	NDUFB1	NM_004545	-1,22	NC	NC	1,23	NC	NC		NC	1,30	1,33	*	
8034843	NDUFB7	NM_004146	-1,29	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,23		
8058428	NDUFS1	NM_005006	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	1,21	1,23	*		
7906703	NDUFS2	NM_004550	NC	NC	NC	1,26	NC	1,29	*	NC	NC	1,26	*	
7939825	NDUFS3	NM_004551	NC	NC	-1,35	NC	NC	1,36	*	NC	NC	NC		
7957715	NEDD1	NM_001135175	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8103646	NEK1	NM_012224	NC	NC	NC	NC	NC	1,24		1,21	NC	1,33	*	
8088001	NEK4	NM_003157	NC	NC	1,22	NC	NC	NC		NC	NC	1,36	*	
7980271	NEK9	NM_033116	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	
8049942	NEU4	NM_080741	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,22		
8014865	NEUROD2	NM_006160	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
8114245	NEUROG1	NM_006161	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC		
7934083	NEUROG3	NM_020999	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	
8021866	NFATC1	NM_172387	NC	NC	-1,22	-1,25	NC	NC		-1,30	-1,24	-1,33	*	
7973709	NFATC4	NM_004554	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,21		
8131944	NFE2L3	NM_004289	NC	NC	NC	NC	NC	1,43	*	NC	NC	1,31		
8135224	NF-E4	NM_001085386	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC		
8096635	NFKB1	NM_003998	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	
7978644	NFKBIA	NM_020529	NC	NC	-1,49	*	NC	NC	NC	-1,23	-1,32	-1,46	*	
8052784	NFU1	NM_015700	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	NC		
8100179	NFXL1	NM_152995	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,36	*	
7915345	NFYC	NM_001142588	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8085852	NGLY1	NM_018297	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	
7985983	NGRN	NM_016645	NC	NC	-1,24	NC	NC	1,30	*	NC	NC	NC		
7968703	NHLRC3	NM_001012754	NC	NC	1,23	NC	NC	NC		1,21	NC	1,41	*	
8116168	NHP2	NM_017838	NC	NC	-1,29	NC	NC	1,28	*	NC	NC	NC		
8047356	NIF3L1	NM_021824	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	NC		
7979044	NIN	NM_020921	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,26	*	
7960253	NINJ2	NM_016533	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,22		
8001537	NIP30	NM_024946	NC	NC	-1,27	1,26	1,26	1,47	*	1,24	NC	NC		
7996934	NIP7	NM_016101	7996934	1,22	NC	NC	NC	1,23		1,22	1,34	1,45	*	
7986665	NIPA2	NM_030922	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,21	NC	1,26	*	
7989939	NIPAL3	NM_020448	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC		
8075263	NIPSNAP1	NM_003634	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC		
7914326	NKAIN1	NM_024522	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC		
7995525	NKD1	NM_033119	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,33	*	
8079079	NKTR	NM_005385	NC	NC	1,24	1,32	1,28	1,34		1,48	NC	1,67	*	
7978676	NKX2-1	NM_003317	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,21		
8115840	NKX2-5	NM_004387	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,38	*	
8101507	NKX6-1	NM_006168	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC		
8105663	NLN	NM_020726	NC	NC	1,32	NC	NC	NC		NC	NC	1,39	*	
8039557	NLRP13	NM_176810	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC		
8039280	NLRP7	NM_001127255	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC		
8129947	NMBR	NM_002511	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
8083757	NMD3	NM_015938	NC	NC	1,20	NC	NC	1,21		NC	NC	1,46	*	
7991837	NME4	NM_005009	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	-1,21	NC	-1,39	*	
8086899	NME6	NM_005793	NC	NC	-1,25	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC		
8055702	NMI	NM_004688	NC	NC	1,30	NC	NC	NC		1,23	1,29	1,51	*	
8062395	NNAT	NM_005386	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,25	*	
7935146	NOC3L	NM_022451	NC	-1,30	NC	1,37	1,26	1,55	*	1,38	NC	1,46		
7934156	NODAL	NM_018055	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC		
8050255	NOL10	NM_024894	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,25	*	
7930008	NOLC1	NM_004741	NC	NC	1,23	1,22	NC	NC		1,27	NC	1,33	*	
8137584	NOM1	NM_138400	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,30	*	
8099051	NOP14	NM_003703	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,34	*	
7960575	NOP2	NM_001033714	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	NC		

## Anexo 2

8060484	NOP56	NM_006392	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	*	NC	NC	1,23	
8047518	NOP58	NM_015934	NC	NC	NC	NC	NC	1,23		1,33	1,22	1,46	*
7906838	NOSIAP	NM_014697	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8037737	NOVA2	NM_002516	-1,23	NC	NC	NC	1,23	-1,23	*	NC	NC	NC	
7950933	NOX4	NR_026571	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,27	*
7998668	NOXO1	NM_144603	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,23	*
7973875	NPAS3	NM_173159	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8010696	NPB	NM_148896	-1,25	-1,27	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,28	*
8019693	NPB	NM_148896	-1,25	-1,27	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,28	*
8067818	NPBWR2	NM_005286	NC	NC	NC	NC	-1,30	-1,41	*	NC	-1,23	-1,30	*
7980146	NPC2	NM_006432	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	1,31	1,27	*
8165406	NPDC1	NM_015392	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,27	*
8007976	NPEPPS	NM_006310	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,42	*
7934141	NPFFR1	NM_022146	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	-1,22	
8096704	NPNT	NM_001033047	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
7912515	NPPA	NM_006172	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		-1,22	-1,24	-1,37	*
7912520	NPPB	NM_002521	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7905606	NPR1	NM_000906	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	-1,31	*
8076169	NPTXR	NM_014293	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	-1,24	-1,33	*
7992460	NPW	NM_001099456	NC	NC	NC	NC	NC	-1,44	*	NC	NC	-1,38	*
8131919	NPY	NM_000905	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,33	*
8097938	NPY2R	NM_000910	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,28	*
7914000	NR0B2	NM_021969	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7921840	NR113	NM_001077482	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,21	
8106923	NR2F1	NM_005654	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8114814	NR3C1	NM_000176	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	1,21	*
8164077	NR5A1	NM_004959	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42	*	NC	NC	NC	
7936360	NRAP	NM_198060	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,26	*
7918813	NRAS	NM_002524	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,26	1,26	1,27	*
8136140	NRF1	NM_005011	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	
8114550	NRG2	NM_004883	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*
8069553	NRIP1	NM_003489	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	1,26	1,35	*
8060339	NRSN2	NM_024958	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC		-1,25	NC	-1,37	*
7976012	NRXN3	NM_004796	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8064438	NSFL1C	NM_016143	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	NC	
8000413	NSMCE1	NM_145080	NC	NC	-1,46	1,21	NC	1,41	*	NC	NC	NC	
8148293	NSMCE2	NM_173685	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	1,22	1,25	*
7936777	NSMCE4A	NM_017615	NC	NC	-1,25	1,31	1,20	1,38	*	1,35	NC	NC	
8110894	NSUN2	NM_017755	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,26	*
7932433	NSUN6	NM_182543	NC	-1,28	NC	1,26	1,24	1,49	*	1,39	NC	1,32	
7915238	NT5C1A	NM_032526	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
7936064	NT5C2	NM_012229	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	1,29	*
8044512	NT5DC4	ENST00000327581	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7903461	NTNG1	NM_001113226	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8050352	NTSR2	NM_012344	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,21	*
7993185	NUBP1	NM_002484	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*	NC	NC	1,26	*
7973826	NUBPL	NM_025152	NC	1,21	NC	NC	NC	1,22		NC	NC	1,29	*
7909142	NUCKS1	NM_022731	-1,29	-1,26	-1,61	*	NC	1,29		NC	NC	-1,25	
7899273	NUDC	NM_006600	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,24	*
8115666	NUDCD2	NM_145266	NC	NC	-1,26	1,35	NC	1,52	*	1,32	NC	1,21	
7934299	NUDT13	NM_015901	1,22	1,27	1,31	NC	NC	NC		NC	1,21	1,39	*
8001496	NUDT21	NM_007006	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	
7906930	NUF2	NM_145697	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,25	*
8036923	NUMBL	NM_004756	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*
7956949	NUP107	NM_020401	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	1,30	NC	1,33	
7924923	NUP133	NM_018230	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	1,26	*
8111629	NUP155	NM_153485	1,23	NC	1,21	NC	NC	NC		NC	NC	1,25	*
8136401	NUP205	NM_015135	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	1,28	*
8101143	NUP54	NM_017426	NC	NC	NC	1,22	NC	1,21	*	NC	1,20	1,22	*
7995843	NUP93	NM_014669	NC	NC	NC	1,25	NC	1,30	*	1,22	NC	1,21	*
7968132	NUPL1	NM_014089	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,42	*
8131506	NXPPI	NM_152745	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,21	
8055478	NXPPI2	NM_007226	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,23	
8008208	NXPPI3	NM_007225	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	NC	
8166899	NYX	NM_022567	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
7936871	OAT	NM_000274	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	1,24	1,27	*
7989661	OAZ2	NM_002537	NC	NC	-1,20	NC	1,27	1,31	*	NC	NC	NC	
7936134	OBFC1	NM_024928	NC	NC	-1,20	1,27	NC	1,28	*	NC	NC	NC	
8159259	OBP2A	NM_014582	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	-1,20	-1,23	*
8059249	OBSL1	NM_015311	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
8169811	OCLR	NM_000276	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,33	*
8158269	ODF2	NM_002540	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
7985025	ODF3L1	NM_175881	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8032051	ODF3L2	NM_182577	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,28	
8166104	OFD1	NM_003611	NC	NC	NC	1,35	NC	1,35	*	1,49	NC	1,29	
7995755	OGFOD1	NM_018233	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	
7928330	OIT3	NM_152635	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7918052	OLFM3	NM_058170	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
7904158	OLFML3	NM_020190	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8068231	OLIG2	NM_005806	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	

8129872	OLIG3	NM_175747	NC	NC	NC	NC	NC	-1,72	*	NC	-1,22	-1,45	*
8084844	OPA1	NM_130837	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*
8153625	OPLAH	NM_017570	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,21	*
8170825	OPN1MW2	NM_001048181	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	-1,21	*
8142814	OPNISW	NM_001708	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,27	*
7928823	OPN4	NM_001030015	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,23	*
8120151	OPN5	NM_181744	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7899528	OPRD1	NM_000911	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,25	*
7908931	OPTC	NM_014359	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,26	*
7977771	OR10G2	NM_001005466	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*
7952388	OR10G7	NM_001004463	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,53	*	-1,22	-1,21	-1,39	*
8026483	OR10H2	NM_013939	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*
8026488	OR10H5	NM_001004466	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,32	*
7921445	OR10J3	NM_001004467	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	-1,21	-1,24	*
7906365	OR10K1	NM_001004473	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,23	*
7906372	OR10Z1	NM_001004478	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,21	*
7973028	OR11G2	NM_001005503	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8161164	OR13J1	NM_001004487	NC	-1,22	NC	NC	1,20	-1,35	*	NC	NC	-1,26	*
8003802	OR1A2	NM_012352	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,22	*
8011322	OR1D2	NM_002548	NC	NC	1,26	-1,25	NC	-1,38	*	NC	NC	NC	
8003806	OR1D4	NM_003552	NC	NC	NC	-1,22	-1,26	-1,38	*	-1,20	-1,34	-1,35	*
7992863	OR1F1	NM_012360	NC	NC	NC	-1,25	-1,24	-1,44	*	-1,30	NC	-1,24	*
8026405	OR1I1	NM_001004713	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
8157698	OR1K1	NM_080859	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,27	*
8136973	OR2A2	NM_001005480	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,48	*	NC	NC	-1,21	*
7925718	OR2B11	NM_001004492	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
7911287	OR2G6	NM_001013355	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	-1,28	NC	
8117741	OR2H2	NM_007160	NC	NC	NC	-1,22	-1,22	-1,46	*	NC	NC	-1,47	*
8177706	OR2H2	NM_007160	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,47	*	NC	NC	-1,38	*
8179009	OR2H2	NM_007160	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,47	*	NC	NC	-1,38	*
7911260	OR2M1P	NR_002141	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8161166	OR2S2	NM_019897	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
7925755	OR2T11	NM_001001964	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
7911281	OR2T2	NM_001004136	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	-1,22	-1,24	*
7911283	OR2T3	NM_001005495	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,40	*	NC	-1,22	-1,25	*
7925741	OR2T33	NM_001004695	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7925749	OR2T34	NM_001001821	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,48	*	NC	NC	-1,25	*
7925757	OR2T35	NM_001001827	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,24	*
7911276	OR2T6	NM_001005471	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	
8025450	OR2Z1	NM_001004699	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	-1,43	*
8003808	OR3A4	NR_024128	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,21	*
7939873	OR4C3	NM_001004702	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
7940187	OR4D11	NM_001004706	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,26	*
7986534	OR4F15	ENST00000355745	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7973024	OR4K17	NM_001004715	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,23	*
7937982	OR51A7	NM_001004749	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7945991	OR51E2	NM_030774	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,20	*
7937973	OR51F2	NM_001004753	NC	NC	NC	NC	-1,32	-1,40	*	NC	NC	-1,28	*
7946013	OR51G1	NM_001005237	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,24	*
7938004	OR51Q1	NM_001004757	NC	NC	NC	-1,31	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,25	*
7946004	OR51S1	NM_001004758	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC	
7946031	OR51V1	NM_001004760	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
7938061	OR52E4	NM_001005165	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,29	*	NC	NC	NC	
7937946	OR52I2	NM_001005170	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,23	*
7946115	OR52L1	NM_001005173	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,25	*
7946107	OR52N1	NM_001001913	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,23	*	NC	NC	NC	
7938076	OR52W1	NM_001005178	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,32	*
7946119	OR56A1	NM_001001917	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	-1,20	NC	
7939992	OR5AR1	NM_001004730	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	
7977655	OR5AU1	NM_001004731	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8157696	OR5C1	NM_001001923	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	-1,24	*
8081200	OR5H14	ENST00000341450	1,22	NC	1,28	NC	-1,21	-1,37	*	NC	NC	NC	
8081212	OR5K2	NM_001004737	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7939944	OR5L1	NM_001004738	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
7948148	OR5M10	NM_001004741	NC	NC	1,21	NC	-1,34	-1,35	*	NC	NC	NC	
7948144	OR5M11	NM_001005245	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
7948125	OR5T2	NM_001004746	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7956003	OR6C4	NM_001005494	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
7977782	OR6J1	ENST00000312039	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,25	*
7921425	OR6K3	ENST00000325769	NC	NC	NC	NC	NC	-1,45	*	NC	NC	-1,24	*
7921427	OR6N1	NM_001005185	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
7940108	OR6Q1	NM_001005186	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8144422	OR7E125P	ENST00000382617	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8144496	OR7E125P	ENST00000382617	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8033744	OR7E19P	X89668	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
7952406	OR8B12	NM_001005195	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,32	*	-1,23	NC	NC	
7952404	OR8B8	NM_012378	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7948157	OR9G4	NM_001005284	NC	NC	NC	NC	-1,25	-1,23	*	NC	NC	NC	
7959294	ORAI1	NM_032790	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
8058161	ORC2L	NM_006190	NC	NC	NC	1,22	NC	1,28	*	1,32	NC	1,35	*

## Anexo 2

8055645	ORC4L	NM_002552	NC	NC	NC	1,23	1,24	1,35 *	NC	NC	NC
8142019	ORCSL	NM_002553	NC	NC	NC	NC	1,25	1,36 *	NC	NC	1,21
8090277	OSBPL11	NM_022776	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,43 *
7977571	OSGEP	NM_017807	NC	NC	NC	1,38	NC	1,57 *	1,36	NC	1,43 *
8105040	OSMR	NM_003999	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,27 *	NC	NC	NC
8050497	OSR1	NM_145260	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,25 *
8084929	OSTalpha	NM_152672	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7984245	OSTbeta	NM_178859	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,24
7938707	OTOG	ENST00000342528	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8083770	OTOL1	NM_001080440	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8099093	OTOP1	NM_177998	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8009705	OTOP2	NM_178160	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *
8112763	OTP	NM_032109	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,21 *
7898602	OTUD3	NM_015207	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
8103011	OTUD4	NM_199324	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	NC	NC	1,41 *
8042251	OTX1	NM_014562	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,31 *
7979357	OTX2	NM_021728	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,41 *	NC	NC	-1,38 *
8147848	OXR1	NM_181354	-1,22	NC	NC	1,29	1,30	1,24	NC	NC	1,30 *
8060604	OXT	NM_000915	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,37 *
7960099	P2RX2	NM_170683	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,25 *
7959267	P2RX4	NM_002560	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
7934278	P4HA1	NM_000917	NC	1,28	1,26	NC	NC	NC	NC	1,24	1,38 *
7950374	P4HA3	NM_182904	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7941537	PAC31	NM_018026	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	-1,27	NC	-1,26 *
7898413	PAD11	NM_013358	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7898431	PAD13	NM_016233	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8159265	PAEP	NM_001018049	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,33 *
8003758	PAFAH1B1	NM_000430	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8167592	PAGE4	NM_007003	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8167880	PAGE5	NM_130467	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,33 *
7950578	PAK1	NM_001128620	NC	NC	1,32	NC	NC	NC	NC	NC	1,40 *
8116848	PAK1IP1	NM_017906	NC	NC	NC	1,24	1,21	1,45 *	1,39	1,24	1,56 *
8028583	PAK4	NM_001014831	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,23 *
7982688	PAK6	NM_020168	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
7947512	PAMR1	NM_015430	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7964089	PAN2	NM_014871	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	1,36	NC	1,40 *
7943218	PANX1	NM_015368	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,29 *
8073992	PANX2	NM_052839	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,22
7975562	PAPLN	NM_173462	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,30 *
7976598	PAPOLA	NM_032632	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8102214	PAPSS1	NM_005443	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8143327	PARP12	NM_022750	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,20 *
8082100	PARP14	NM_017554	NC	NC	NC	NC	1,24	1,25 *	1,21	1,26	1,41 *
7989759	PARP16	NM_017851	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8090018	PARP9	NM_031458	NC	NC	NC	1,33	1,42	1,33	1,28	1,29	1,42 *
7948399	PATL1	NM_152716	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8059301	PAX3	NM_181458	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8142747	PAX4	NM_006193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8054740	PAX8	NM_003466	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8087951	PBRM1	NM_018165	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8108174	PCBD2	NM_032151	NC	NC	NC	NC	1,24	1,24 *	NC	NC	NC
8069252	PCBP3	NM_020528	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	-1,23	NC	-1,29 *
8087806	PCBP4	NM_020418	NC	NC	NC	NC	-1,30	NC	-1,31	-1,24	-1,35 *
7969835	PCCA	NM_000282	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *
8097449	PCDH10	NM_032961	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8110183	PCDH24	NM_017675	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,22
7971850	PCDH8	NM_002590	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7942839	PCF11	NM_015885	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7972867	PCID2	NM_001127202	NC	NC	NC	1,38	NC	1,40 *	1,39	NC	1,29
8063590	PCK1	NM_002591	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7927095	PCMTD2 //	BC032332	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8097064	PCMTD2 //	BC032332	NC	NC	1,30	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
8176865	PCMTD2 //	BC032332	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8177460	PCMTD2 //	BC032332	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
7968029	PCOTH	NM_001014442	1,22	-1,27	NC	-1,30	NC	-1,46 *	NC	NC	-1,32
8172447	PCSK1N	NM_013271	-1,24	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,31
8061094	PCSK2	NM_002594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8155898	PCSK5	NM_006200	1,22	NC	1,36	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8093086	PCYT1A	NM_005017	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,25	NC	1,26 *
8060294	PDCD1	NM_005018	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *
8091941	PDCD10	NM_007217	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,22
7930454	PDCD4	NM_145341	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
8027473	PDCD5	NM_004708	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
8163964	PDCL	NM_005388	NC	1,24	1,22	NC	NC	NC	1,27	1,26	1,39 *
8080676	PDE12	NM_177966	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7954136	PDE6H	NM_006205	NC	NC	-1,32	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,35 *
7985662	PDE8A	NM_002605	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,39 *
8076195	PDGFB	NM_002608	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,28 *
8144802	PDGFRL	NM_006207	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7991815	PDI42	NM_006849	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,20



8050278	<i>PDIA6</i>	NM_005742	NC	NC	NC	1,21	NC	1,30 *	NC	NC	1,28
7996341	<i>PDP2</i>	NM_020786	NC	1,23	NC	NC	-1,27	1,29 *	NC	NC	NC
7968516	<i>PDS5B</i>	NM_015032	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8128626	<i>PDSS2</i>	NM_020381	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	1,27 *
7993433	<i>PDXDC1</i>	NM_015027	NC	NC	NC	1,21	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7944478	<i>PDZD3</i>	NM_024791	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	NC
8017599	<i>PECAM1</i>	NM_000442	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8039607	<i>PEG3</i>	NM_006210	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7974533	<i>PELI2</i>	NM_021255	NC	NC	1,40 *	NC	NC	NC	NC	1,28	1,38 *
8150901	<i>PENK</i>	NM_006211	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7991323	<i>PEX11A</i>	NM_003847	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,25	-1,36 *
8042161	<i>PEX13</i>	NM_002618	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,27	NC	1,21
8122409	<i>PEX3</i>	NM_003630	NC	NC	NC	1,20	NC	1,34 *	1,25	NC	1,31 *
8092277	<i>PEX5L</i>	NM_016559	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8063453	<i>PFDN4</i>	NM_002623	NC	NC	-1,29	NC	1,22	1,42 *	NC	NC	NC
7909285	<i>PFKFB2</i>	NM_006212	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8147469	<i>PGCP</i>	NM_016134	NC	NC	NC	NC	1,23	1,29 *	NC	1,20	1,28 *
7897620	<i>PGD</i>	NM_002631	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,26 *
7980233	<i>PGF</i>	NM_002632	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,26 *
8113591	<i>PGGT1B</i>	NM_005023	NC	1,25	1,32	NC	NC	NC	NC	1,28	1,37 *
8094556	<i>PGM2</i>	NM_018290	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *
8127841	<i>PGM3</i>	NM_015599	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	1,24	NC	1,34 *
7998759	<i>PGP</i>	NM_001042371	NC	NC	-1,27	1,21	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8010271	<i>PGS1</i>	NM_024419	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7969129	<i>PHF11</i>	NM_001040443	NC	NC	NC	NC	1,23	1,22	1,22	NC	1,27 *
8131519	<i>PHF14</i>	NM_014660	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8097417	<i>PHF17</i>	NM_199320	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8062213	<i>PHF20</i>	NM_016436	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	NC	NC	1,20
8148358	<i>PHF20L1</i>	NM_016018	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,27 *
8076677	<i>PHF21B</i>	NM_138415	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
8120441	<i>PHF3</i>	NM_015153	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
8076339	<i>PHF5A</i>	NM_032758	-1,21	NC	NC	NC	NC	1,38 *	NC	NC	NC
8169969	<i>PHF6</i>	NM_032458	NC	NC	1,23	1,32	NC	NC	1,34	1,22	1,44 *
8080306	<i>PHF7</i>	NM_016483	NC	NC	NC	1,26	NC	1,25 *	1,25	NC	1,24
8127698	<i>PHIP</i>	NM_017934	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7945781	<i>PHLDA2</i>	NM_003311	-1,30	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *
7923372	<i>PHLDA3</i>	NM_012396	NC	NC	NC	NC	NC	-1,52 *	NC	NC	-1,34 *
7950136	<i>PHOX2A</i>	NM_005169	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	-1,28 *
8133818	<i>PHTF2</i>	NM_001127358	1,29	1,24	NC	NC	NC	NC	1,26	1,21	1,33 *
8158431	<i>PHYHD1</i>	NM_001100876	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
8146957	<i>PII5</i>	NM_015886	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8094378	<i>PI4K2B</i>	NM_018323	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,26 *
7989680	<i>PIF1</i>	NM_025049	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	-1,21 *
8051993	<i>PIGF</i>	NM_173074	1,29	NC	1,33	NC	NC	1,29	1,48	-1,25	1,72 *
8005157	<i>PIGL</i>	NM_004278	NC	NC	NC	1,22	NC	1,20	1,38	NC	1,36 *
7921526	<i>PIGM</i>	NM_145167	1,24	NC	NC	NC	NC	1,23	1,32	NC	1,32 *
7923929	<i>PIGR</i>	NM_002644	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8084016	<i>PIK3CA</i>	NM_006218	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8026954	<i>PIK3R2</i>	NM_005027	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8047865	<i>PIKFYVE</i>	NM_015040	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8073960	<i>PIM3</i>	NM_001001852	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,27 *	-1,25	NC	NC
7898663	<i>PINK1</i>	NM_032409	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8140468	<i>PION</i>	NM_017439	NC	NC	NC	NC	1,24	1,35 *	1,25	NC	1,37 *
8075130	<i>PITPNB</i>	NM_012399	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,39 *
8102352	<i>PITX2</i>	NM_153426	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7935983	<i>PITX3</i>	NM_005029	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8113469	<i>PJA2</i>	NM_014819	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,22 *
8002629	<i>PKD1L3</i>	NM_181536	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8096314	<i>PKD2</i>	NM_000297	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,25 *
7935756	<i>PKD2L1</i>	NM_016112	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7920744	<i>PKLR</i>	NM_000298	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,26 *
7998886	<i>PKMYT1</i>	NM_182687	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,23	-1,24 *
8068866	<i>PKNOX1</i>	NM_004571	1,20	NC	NC	NC	NC	1,24 *	1,22	NC	NC
7944955	<i>PKNOX2</i>	NM_022062	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7937363	<i>PKP3</i>	NM_007183	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
8081890	<i>PLA1A</i>	NM_015900	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,31 *	NC	NC	-1,26 *
7934271	<i>PLA2G12B</i>	NM_032562	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7913216	<i>PLA2G2A</i>	NM_000300	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7913226	<i>PLA2G2D</i>	NM_012400	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,23
7913211	<i>PLA2G2E</i>	NM_014589	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
7989616	<i>PLA2G2F</i>	NM_022819	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,25 *
7908351	<i>PLA2G4A</i>	NM_024420	NC	NC	NC	NC	1,33	1,35	NC	1,30	1,53 *
7987792	<i>PLA2G4D</i>	NM_178034	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8160487	<i>PLAA</i>	NM_001031689	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7928679	<i>PLAC9</i>	NM_001012973	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,35 *
8086185	<i>PLCD1</i>	NM_006225	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,33 *	NC	NC	NC
8016168	<i>PLCD3</i>	NM_133373	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,27 *
8048350	<i>PLCD4</i>	NM_032726	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
7997453	<i>PLCG2</i>	NM_002661	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8092134	<i>PLD1</i>	NM_002662	NC	NC	1,26	NC	1,20	1,26	NC	NC	1,59 *

## Anexo 2

7925511	PLD5	NM_152666	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
8042391	PLEK	NM_002664	NC	NC	NC	1,20	NC	1,26	*	NC	NC	NC	NC
8132045	PLEKHA8	NM_032639	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*
7942453	PLEKHB1	NM_021200	-1,23	NC	-1,34	-1,30	-1,27	-1,32		-1,60	-1,41	-1,77	*
8045247	PLEKHB2	NM_017958	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	1,27	1,33	*
7912056	PLEKHG5	NM_198681	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8097356	PLK4	NM_014264	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	1,28	NC	NC	NC
8091327	PLSCR1	NM_021105	NC	NC	1,21	NC	1,22	NC	NC	1,25	1,29	1,38	*
8012197	PLSCR3	NM_020360	NC	NC	NC	-1,38	-1,35	-1,49		-1,49	-1,39	-1,75	*
7984779	PML	NM_033240	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8159337	PMPCA	NM_015160	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
8138030	PMS2	NR_003085	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	1,21	NC	1,23	NC
8133309	PMS2L5	NM_174930	NC	-1,28	-1,25	-1,24	NC	NC	NC	-1,21	-1,31	-1,39	*
7930790	PNLIPRP1	NM_006229	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,22	*
8042381	PNO1	NM_020143	NC	NC	NC	NC	NC	1,23		NC	NC	1,28	*
7937485	PNPLA2	NM_020376	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	-1,22	NC	-1,28	*
8142307	PNPLA8	NM_015723	NC	NC	NC	NC	NC	1,26		NC	1,21	1,38	*
8052331	PNPT1	NM_033109	NC	NC	NC	NC	NC	1,30		1,25	NC	1,48	*
8121076	PNRC1	NM_006813	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
7898910	PNRC2	NM_017761	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	1,21	1,30	1,31	*
8039933	PNRC2	NM_017761	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	1,21	1,30	1,31	*
8034712	PODNL1	NM_024825	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7907024	POGK	NM_017542	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
8166525	POLA1	NM_016937	NC	NC	NC	NC	NC	1,21		NC	NC	1,32	*
8076465	POLDIP3	NM_032311	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	NC	NC
8017621	POLG2	NM_007215	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	1,35	NC	1,37	*
8021275	POLI	NM_007195	NC	-1,25	NC	NC	NC	1,35	*	NC	NC	1,21	NC
8106303	POLK	NM_016218	NC	NC	1,23	NC	NC	1,23		1,24	1,25	1,51	*
8119842	POLRIC	NM_203290	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	1,23	*
8155268	POLR1E	NM_022490	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
8095269	POLR2B	NM_000938	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*
7940688	POLR2G	NM_002696	NC	NC	-1,26	NC	NC	1,30	*	NC	NC	NC	NC
8036276	POLR2J	NM_006233	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
7945573	POLR2L	NM_021128	NC	NC	NC	-1,28	-1,24	NC		-1,31	-1,27	-1,34	*
7958275	POLR3B	NM_018082	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,27	*
8061171	POLR3F	NM_006466	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	1,24	1,30	*
8133275	POM121	NM_172020	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,26		-1,30	-1,22	-1,33	*
8140297	POM121C	NM_001099415	NC	NC	NC	-1,29	-1,24	-1,35		-1,40	-1,33	-1,51	*
8075024	POM121L10P	NR_024593	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42	*	NC	NC	-1,28	NC
8132840	POM121L12	NM_182595	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,22	NC
8141076	PON2	NM_000305	NC	NC	NC	1,24	NC	1,26		1,40	NC	1,31	*
7967084	POP5	NM_015918	NC	NC	-1,25	NC	NC	1,36	*	NC	NC	NC	NC
8142697	POT1	NR_003102	NC	NC	NC	NC	NC	1,39	*	1,34	NC	1,39	*
8022428	POTEC	NM_001137671	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,27	*
7944537	POU2F3	NM_014352	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8121209	POU3F2	NM_005604	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
8044109	POU3F3	NM_006236	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
8178470	POU5F1	NM_002701	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
8113094	POU5F2	NM_153216	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,31	*
8132387	POU6F2	NM_007252	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8060101	PP14571	AK092442	NC	NC	NC	NC	NC	-1,45	*	NC	NC	-1,37	*
8102141	PPA2	NM_176869	NC	NC	NC	1,23	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC
8031999	PPAP2C	NM_003712	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24		NC	NC	-1,27	*
7954940	PPHLN1	NM_016488	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,21	1,26	*
7974198	PPIL5	NM_152329	NC	NC	NC	NC	NC	1,20		NC	NC	1,21	*
7999253	PPL	NM_002705	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,26	*
7974781	PPM1A	NM_021003	NC	NC	1,27	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
8041713	PPM1B	NM_177968	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*
8008922	PPM1D	NM_003620	1,21	1,20	1,31	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*
8041122	PPP1CB	NM_002709	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	1,27	*
7966368	PPP1CC	NM_002710	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*
8117834	PPP1R11	NM_021959	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,45	*
8177744	PPP1R11	NM_021959	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,45	*
8037563	PPP1R13L	NM_006663	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,26	*
7987565	PPP1R14D	NM_017726	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,23	NC
8030128	PPP1R15A	NM_014330	-1,24	NC	-1,94	-1,43	-1,33	NC		-1,77	-1,42	-2,08	*
7963826	PPP1R1A	NM_006741	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42	*	NC	NC	-1,22	*
8114158	PPP2CA	NM_002715	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
7931405	PPP2R2D	NM_018461	NC	NC	-1,28	1,20	NC	1,40	*	1,32	NC	NC	NC
7978628	PPP2R3C	NM_017917	NC	NC	NC	NC	NC	1,28		1,29	NC	1,35	*
8101971	PPP3CA	NM_000944	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
8162920	PPP3R2	NM_147180	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,52	*	NC	NC	-1,21	NC
8080973	PPP4R2	NM_174907	NC	NC	NC	NC	NC	1,20		NC	NC	1,37	*
8076365	PPPDE2	NM_015704	NC	NC	-1,22	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,39	*
7966345	PPTC7	NM_139283	NC	NC	NC	NC	NC	1,21		NC	1,22	1,25	*
8105633	PPWD1	NM_015342	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	1,35	NC	1,40	*
8005836	PPY2	NR_002181	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8040278	PQLC3	NM_152391	NC	NC	NC	NC	1,23	1,30	*	NC	1,24	NC	NC
8172531	PRAF2	NM_007213	NC	NC	NC	-1,22	-1,36	-1,45		-1,28	-1,33	-1,71	*
7898012	PRAMEF15	NM_001098376	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC

7898040	PRAMEF15	NM_001098376	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7912601	PRAMEF18	NM_001099850	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,26	*
7912617	PRAMEF18	NM_001099850	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,26	*
7898030	PRAMEF20	NM_001099852	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
7898052	PRAMEF20	NM_001099852	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	NC
7898002	PRAMEF22	NM_001100631	-1,21	NC	NC	1,23	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
7912582	PRAMEF5	NM_001013407	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,21	NC
7897991	PRAMEF7	NM_001012277	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,34	*
7912591	PRAMEF7	NM_001012277	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,34	*
7912606	PRAMEF7	NM_001012277	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,34	*
7931571	PRAP1	NM_145202	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,39	*	NC	NC	-1,24	NC
7961306	PRB1	NM_005039	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7961320	PRB2	NM_006248	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	NC
7961300	PRB3	NM_006249	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,24	NC
7906235	PRCC	NM_005973	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*
8158708	PRDM12	NM_021619	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,32	*
8121216	PRDM13	NM_021620	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,27	*
8151240	PRDM14	NM_024504	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
7897132	PRDM16	NM_022114	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	NC
8096032	PRDM8	NM_020226	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*
7981013	PRIMA1	NM_178013	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
8161615	PRKACG	NM_002732	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,24	*
8058997	PRKAG3	NM_017431	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8080487	PRKCD	NM_006254	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
8083854	PRKCI	NM_002740	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	1,32	*
8051547	PRKDC	NM_005813	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
8150599	PRKDC	NM_006904	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*
8176460	PRKY	NM_002760	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	1,24	NC	1,25	*
8049509	PRLH	NM_015893	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,26	*
7936590	PRLHR	NM_004248	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	NC
7999435	PRM2	NM_002762	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7938890	PRMT3	NM_005788	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*	NC	NC	1,25	*
7996785	PRMT7	NM_019023	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,32	NC	NC	NC
8060758	PRNP	NM_000311	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,29	*
8013747	PROCA1	NM_152465	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
8036155	PRODH2	NM_021232	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
7903884	PROK1	NM_032414	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	-1,22	NC
8042413	PROKR1	NM_138964	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,26	*
8064859	PROKR2	NM_144773	NC	-1,22	NC	-1,36	NC	-1,42	*	NC	-1,26	-1,22	NC
8116162	PROPI	NM_006261	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	NC	NC
8145854	PROSC	NM_007198	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,35	*
7909681	PROXI	NM_002763	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	NC
7926283	PRPF18	NM_003675	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	1,27	*
7948476	PRPF19	NM_014502	NC	NC	-1,21	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC
8157283	PRPF4	NM_004697	1,22	NC	NC	NC	NC	1,22	1,23	NC	NC	1,25	*
7955250	PRPF40B	NM_012272	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,28	*
8064218	PRPF6	NM_012469	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,23	*
8126436	PRPH2	NM_000322	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,33	*
8018694	PRPSAP1	NM_002766	NC	NC	-1,27	1,20	NC	1,31	*	1,21	NC	NC	NC
8005512	PRPSAP2	NM_002767	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	NC
7945125	PRR10	BC113593	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7955810	PRR13	NM_018457	NC	-1,24	-1,21	-1,24	NC	NC	-1,29	-1,22	-1,41	-1,41	*
8036808	PRR13	NM_018457	NC	-1,25	-1,23	-1,22	NC	NC	-1,28	NC	NC	-1,42	*
8064242	PRR17	NM_207349	NC	NC	NC	NC	NC	-1,48	*	NC	NC	-1,36	*
8117922	PRR3	NM_025263	NC	NC	-1,24	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC
8110382	PRR7	NM_030567	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,38	*
8030393	PRRG2	NM_000951	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7939150	PRRG4	NM_024081	NC	1,24	1,22	NC	NC	NC	NC	1,25	1,38	1,38	*
8125321	PRRT1	NM_030651	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
8178754	PRRT1	NM_030651	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,21	NC
8179950	PRRT1	NM_030651	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,21	NC
8158554	PRRX2	NM_016307	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,20	NC
8102468	PRSS12	NM_003619	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,31	*
7998878	PRSS22	NM_022119	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
7998843	PRSS27	NM_031948	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
8120932	PRSS35	NM_153362	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
8001014	PRSS36	NM_173502	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,25	*
8054769	PSITP4	AY427952	NC	-1,28	NC	1,44	1,31	1,35	*	1,35	NC	1,29	NC
7935990	PSD	NM_002779	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,31	*
7975545	PSENI	NM_000021	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*
8027996	PSENE1	NM_172341	-1,22	NC	-1,43	*	NC	NC	NC	-1,21	-1,22	-1,22	NC
8037272	PSG5	NM_002781	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	NC
8139232	PSMA2	NM_002787	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,27	1,27	*
7974603	PSMA3	NM_002788	NC	NC	NC	1,26	1,26	1,23	NC	1,24	1,29	1,29	*
7973936	PSMA6	NM_002791	-1,36	NC	-1,21	1,26	NC	1,35	*	NC	NC	NC	NC
8067382	PSMA7	NM_002792	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
8130952	PSMB1	NM_002793	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	1,23	1,24	1,24	*
7977879	PSMB5	NM_001144932	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	1,33	*
8003953	PSMB6	NM_002798	NC	NC	-1,56	*	NC	1,46	*	NC	NC	NC	NC
8125500	PSMB8	NM_004159	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	NC

## Anexo 2

8178855	PSMB8	NM_004159	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8180049	PSMB8	NM_004159	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8135250	PSMC2	NM_002803	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,26 *
7947867	PSMC3	NM_002804	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8009227	PSMC5	NM_002805	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7974380	PSMC6	NM_002806	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,22	1,28	1,48 *
8150870	PSMC6	NM_002806	NC	NC	NC	1,40	1,39	1,43 *	1,22	NC	1,48 *
8049016	PSMD1	NM_002807	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	1,35 *
8017810	PSMD12	NM_002816	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	1,21	1,26 *
8088535	PSMD6	NM_014814	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,20	NC	NC
7997230	PSMD7	NM_002811	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8118076	PSORS1C1	NM_014068	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,27 *
8177938	PSORS1C1	NM_014068	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,26 *
8124865	PSORS1C2	NM_014069	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,27
8178445	PSORS1C2	NM_014069	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,26
7970413	PSPC1	NR_003272	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,33 *
8033159	PSPN	NM_004158	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,32 *
7918300	PSRC1	NM_001032290	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,21 *
7985099	PSTPIP1	NM_003978	NC	NC	NC	1,22	NC	1,31 *	NC	NC	NC
8023043	PSTPIP2	NM_024430	NC	NC	NC	1,28	1,24	1,29 *	1,36	1,34	1,35 *
8106107	PTCD2	NM_024754	1,22	NC	NC	NC	NC	1,24 *	1,24	NC	1,31 *
7926356	PTER	NM_001001484	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7974366	PTGER2	NM_000956	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	1,27 *	NC	NC	NC
8066925	PTGIS	NM_000961	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8038362	PTH2	NM_178449	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,30 *
7962000	PTHLH	NM_198965	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8119689	PTK7	NM_002821	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,29 *
7953409	PTMS	NM_002824	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	NC	NC	-1,40 *
8030525	PTOV1	NM_017432	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
7984263	PTPLAD1	NM_016395	NC	NC	NC	1,24	1,25	1,26	1,43	1,28	1,38 *
7958846	PTPN11	NM_002834	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8060539	PTPRA	NM_002836	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7949792	PTPRCAP	NM_005608	-1,25	NC	-1,45 *	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,35 *
8059186	PTPRN	NM_002846	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,28 *
8144121	PTPRN2	NM_002847	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7899562	PTPRU	NM_133178	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8017143	PTRH2	NM_016077	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *
8070819	PTTG1IP	NM_004339	NC	NC	NC	1,22	1,28	1,38 *	NC	1,27	1,30 *
8052418	PUS10	NM_144709	1,28	NC	1,26	NC	NC	NC	1,37	NC	1,43 *
8134777	PVRIG	NM_024070	NC	NC	NC	NC	-1,26	-1,22	NC	-1,35	-1,38 *
7958379	PWP1	NM_007062	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8069003	PWP2	NM_005049	NC	NC	-1,30	NC	NC	1,36 *	NC	NC	NC
8150704	PXDNL	NM_144651	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8019316	PYCR1	NM_006907	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8001037	PYDC1	NM_152901	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7920594	PYGO2	NM_138300	NC	NC	-1,31	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,37 *
8015890	PYY	NM_004160	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,20
8005833	PYY2	NR_003064	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,31 *
8099541	QDPR	NM_000320	NC	1,22	1,24	NC	NC	NC	1,21	1,21	1,37 *
8123315	QKI	NM_206855	NC	NC	1,31	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8029744	QPCTL	NM_017659	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7994609	QPRT	NM_014298	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8025728	QTRT1	NM_031209	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,21 *
8081786	QTRTD1	NM_024638	NC	NC	NC	1,22	NC	1,27 *	1,21	NC	1,37 *
7936567	RAB11FIP2	NM_014904	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8020029	RAB12	NM_001025300	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8136580	RAB19	NM_001008749	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,32 *	NC	-1,26	NC
8052680	RAB1A	NM_004161	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
7957177	RAB21	NM_014999	NC	NC	1,21	1,33	NC	NC	NC	1,33	1,44 *
8115997	RAB24	NM_001031677	NC	NC	NC	1,25	NC	1,25	1,33	1,32	1,49 *
7992518	RAB26	NM_014353	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,29 *
8074880	RAB36	NM_004914	NC	NC	NC	NC	1,23	-1,28 *	NC	NC	NC
8045398	RAB3GAP1	NM_012233	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,40 *
7948643	RAB3IL1	NM_013401	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8174246	RAB40A	NM_080879	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8168135	RAB41	NM_001032726	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,22 *
8119107	RAB44	XM_001722068	NC	-1,33	NC	NC	1,20	-1,36 *	NC	NC	-1,40 *
7956088	RAB5B	NM_002868	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,24
8045136	RAB6C	NM_032144	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8055261	RAB6C	NM_032144	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8090509	RAB7A	NM_004637	-1,40	-1,80	-2,82 *	1,50	1,71	1,63	NC	NC	-1,73
8174271	RAB9B	NM_016370	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
8037071	RAB4C1	NM_006423	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,29 *
8004111	RABEP1	NM_004703	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,31 *
8157700	RABGAP1	NM_012197	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
8133176	RABGEF1	NM_014504	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,23
8044669	RABL2A	NM_013412	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8077171	RABL2B	NM_001130921	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7963157	RACGAP1	NM_013277	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC
8111457	RAD1	NM_002853	NC	NC	NC	1,22	NC	1,32 *	1,21	NC	NC

8177478	RAD17	NM_133338	NC	NC	NC	1,26	NC	1,35 *	1,25	NC	1,28
7982792	RAD51	NM_002875	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	1,35 *	NC	NC	NC
8063566	RAE1	NM_003610	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	1,23 *
8130163	RAET1G	NM_001001788	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8130173	RAET1L	NM_130900	NC	NC	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	-1,22	-1,47 *
8171539	RAI2	NM_021785	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,27 *
8044919	RALB	NM_002881	NC	NC	NC	1,21	NC	1,21	1,25	1,31	1,44 *
8007348	RAMP2	NM_005854	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,24 *
8071332	RANBP1	NM_002882	-1,22	NC	NC	1,22	NC	1,30 *	NC	NC	NC
8044263	RANBP2	NM_006267	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,37 *
7913385	RAP1GAP	NM_001145657	NC	NC	1,37	NC	NC	-1,50 *	NC	NC	NC
8007084	RARA	NM_000964	NC	NC	-1,22	-1,33	NC	NC	-1,31	-1,25	-1,45 *
8109802	RARS	NM_002887	NC	NC	NC	1,20	NC	1,40 *	1,22	NC	1,35 *
8128013	RARS2	NM_020320	NC	1,21	1,20	NC	NC	NC	1,21	NC	1,26 *
8083094	RASA2	NM_006506	NC	NC	NC	NC	1,21	1,23 *	NC	NC	NC
8013112	RASD1	NM_016084	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,29
8072705	RASD2	NM_014310	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,27 *
8161945	RASEF	NM_152573	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8006562	RASL10B	NM_033315	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8087640	RASSF1	NM_007182	NC	NC	-1,41	1,41	1,30	1,58 *	NC	NC	NC
8064790	RASSF2	NM_014737	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
7937407	RASSF7	NM_003475	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,30 *	NC	-1,24	-1,26 *
8033969	RAVER1	NM_133452	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *
8032601	RAX2	NM_032753	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,24
8131292	RBAK	NM_021163	NC	NC	NC	1,25	NC	1,34 *	1,27	NC	NC
7923712	RBBP5	NM_005057	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *	1,24	1,24	1,33 *
8065230	RBBP9	NM_006606	NC	NC	NC	1,25	NC	1,45 *	NC	1,21	1,31
7995631	RBL2	NM_005611	NC	NC	NC	1,24	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8151788	RBM12B	NM_203390	NC	NC	NC	1,26	NC	1,38 *	1,33	NC	1,30
7903878	RBM15	NM_022768	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
7926021	RBM17	NM_001145547	NC	NC	NC	1,25	NC	1,26 *	NC	NC	1,24 *
7966638	RBM19	NM_016196	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8142774	RBM28	NM_018077	NC	NC	NC	1,29	1,23	1,39 *	1,25	NC	1,38 *
7925184	RBM34	NM_015014	NC	NC	NC	1,25	1,23	1,26 *	NC	1,23	1,35 *
8066009	RBM39	NM_184234	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,21 *
8079869	RBM5	NM_005778	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *	1,35	NC	1,40 *
8091071	RBP2	NM_004164	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7935116	RBP4	NM_006744	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8062948	RBPJL	NM_014276	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,26 *
8163972	RC3H2	NM_001100588	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *	NC	NC	NC
7971602	RCBTB1	NM_018191	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,29	NC	1,33 *
7971573	RCBTB2	NM_001268	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,35 *
7912956	RCC2	NM_001136204	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
7986186	RCCD1	NM_033544	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,23 *
8101013	RCHY1	NM_015436	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,32 *
7939120	RCN1	NM_002901	NC	NC	NC	NC	1,22	1,39 *	1,21	1,33	1,54 *
7947358	RCN1	NM_002901	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,33	NC	1,30 *
7924085	RD3	NM_183059	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
7951554	RDX	NM_002906	NC	NC	NC	1,35	1,35	1,49 *	1,43	1,37	1,59 *
7961654	RECQL	NM_002907	NC	NC	NC	1,33	1,22	1,37 *	1,36	1,23	1,40 *
8153838	RECQL4	NM_004260	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8108359	REEP2	NM_016606	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,26 *	NC	NC	-1,26 *
7927786	REEP3	NM_001001330	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8108822	RELL2	NM_173828	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8141950	RELN	NM_005045	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8061529	REMI	NM_014012	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7923608	REN	NM_000537	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8137225	REPIN1	NM_013400	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,21
7927120	RET	NM_020975	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8054227	REV1	NM_016316	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,22	NC	1,26 *
8151609	REXO1L1	NM_172239	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,29 *
8151613	REXO1L1	AF495523	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	-1,22	-1,43 *
8151629	REXO1L1	AF495523	NC	NC	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	NC	-1,35
8151605	REXO1L1 //	AF495523	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	-1,22	-1,43 *
8151617	REXO1L1 //	AF495523	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	-1,22	-1,43 *
8151621	REXO1L1 //	AF495523	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	-1,22	-1,43 *
8151625	REXO1L1 //	AF495523	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	-1,22	-1,43 *
8151603	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,32 *
8151607	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,32 *
8151615	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,31 *
8151619	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,32 *
8151623	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,32 *
8151627	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,27 *
8151631	REXO1L2P	NR_003594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,32 *
7959052	RFC5	NM_001130113	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,23	NC	NC
8121553	RFPL4B	NM_001013734	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8088092	RFT1	NM_052859	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
8002762	RFWD3	NM_018124	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7919971	RFX5	NM_000449	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
8101916	RG9MTD2	NM_152292	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,21 *

## Anexo 2

8155301	<i>RG9MTD3</i>	NM_144964	NC	-1,29	NC	1,33	1,25	1,43 *	1,22	NC	1,25
8054414	<i>RGPD3</i>	NM_001144013	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8044161	<i>RGPD4</i>	NM_182588	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8054532	<i>RGPD5</i>	NM_005054	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
8130394	<i>RGS17</i>	NM_012419	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8105596	<i>RGS7BP</i>	NM_001029875	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8075200	<i>RHBDD3</i>	NM_012265	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,28 *
7998136	<i>RHBDF1</i>	NM_022450	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,21 *
8006367	<i>RHBDL3</i>	NM_138328	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,22 *
7991283	<i>RHCG</i>	NM_016321	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8143957	<i>RHEB</i>	NM_005614	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	NC	NC	1,39 *
8082552	<i>RHO</i>	NM_000539	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8145227	<i>RHOBTB2</i>	NM_015178	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,30 *	NC	NC	NC
7941761	<i>RHOD</i>	NM_014578	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7967202	<i>RHOF</i>	NM_019034	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8045289	<i>RHOQ</i>	NM_012249	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	1,25 *
7958331	<i>RIC8B</i>	NM_018157	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8045697	<i>RIF1</i>	NM_018151	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	1,30 *
8074593	<i>RIMBP3</i>	NM_015672	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8074771	<i>RIMBP3</i>	NM_015672	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7900540	<i>RIMKLA</i>	NM_173642	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,29 *
7976292	<i>RIN3</i>	NM_024832	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,31 *
8113286	<i>RIOK2</i>	NM_018343	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	1,22	1,36	1,35 *
8116622	<i>RIPK1</i>	NM_003804	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8174317	<i>RIPPLY1</i>	NM_138382	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8173615	<i>RLIM</i>	NM_183353	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	NC	NC	1,30 *
8026265	<i>RLN3</i>	NM_080864	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8130191	<i>RMND1</i>	NM_017909	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *	NC	NC	1,28 *
7977642	<i>RNASE13</i>	NM_001012264	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7973149	<i>RNASE7</i>	NM_032572	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,25
8050079	<i>RNASEH1</i>	NM_002936	NC	NC	NC	NC	NC	1,44 *	1,39	1,23	1,42 *
8111286	<i>RNASEN</i>	NM_013235	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,21	NC	NC
8130768	<i>RNASET2</i>	NM_003730	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
7962884	<i>RND1</i>	NM_014470	-1,25	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,21	NC	-1,29 *
8007454	<i>RND2</i>	NM_005440	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7972438	<i>RNF113B</i>	NM_178861	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,28 *
8083310	<i>RNF13</i>	NM_007282	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	1,24 *
8116372	<i>RNF130</i>	NM_018434	NC	NC	NC	NC	1,27	1,21	NC	NC	1,30 *
7946569	<i>RNF141</i>	NM_016422	NC	NC	1,34	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *
8054329	<i>RNF149</i>	NM_173647	NC	NC	1,28	1,21	1,23	1,21	NC	1,33	1,54 *
8069711	<i>RNF160</i>	NM_015565	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8093130	<i>RNF168</i>	NM_152617	NC	NC	NC	1,24	NC	1,29 *	NC	NC	1,36 *
7942544	<i>RNF169</i>	NM_001098638	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,22 *
8163485	<i>RNF183</i>	NM_145051	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8156945	<i>RNF20</i>	NM_019592	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	1,25	NC	1,32 *
8165492	<i>RNF208</i>	NM_031297	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,31 *
8165637	<i>RNF208</i>	NM_031297	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,31 *
8019071	<i>RNF213</i>	NM_020914	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *
7972180	<i>RNF219</i>	NM_024546	NC	NC	NC	1,24	NC	1,29	1,22	1,25	1,35 *
8012473	<i>RNF222</i>	NM_001146684	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7944510	<i>RNF26</i>	NM_032015	-1,25	-1,33	-1,26	-1,20	-1,38	-1,20	-1,38	-1,28	-1,50 *
7959282	<i>RNF34</i>	NM_194271	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8115927	<i>RNF44</i>	NM_014901	NC	NC	-1,28	-1,26	-1,23	-1,23	-1,31	NC	-1,57 *
8178188	<i>RNF5P1</i>	NR_003129	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	-1,24 *
7970681	<i>RNF6</i>	NM_005977	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	1,23	1,25 *
8083119	<i>RNF7</i>	NM_014245	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,29	1,30 *
8020323	<i>RNMT</i>	NM_003799	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	NC	1,22	1,29 *
7944882	<i>ROBO3</i>	NM_022370	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,28 *
8022441	<i>ROCK1</i>	NM_005406	NC	NC	1,24	1,20	NC	NC	NC	NC	1,48 *
8050302	<i>ROCK2</i>	NM_004850	NC	NC	NC	1,22	NC	1,26	1,26	NC	1,35 *
8162283	<i>ROR2</i>	NM_004560	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8156923	<i>RP11-35N6.1</i>	NM_207299	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	-1,21 *
8061742	<i>RP11-410N8.4</i>	ENST00000375670	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
7911355	<i>RP11-631M21.2</i>	NM_177987	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7919271	<i>RP11-94I2.2</i>	NM_183372	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7919351	<i>RP11-94I2.2</i>	NM_183372	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
8169154	<i>RP1-19N1.1</i>	XM_936882	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8169931	<i>RP13-102H20.1</i>	NM_144967	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8149283	<i>RP1L1</i>	NM_178857	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8167006	<i>RP2</i>	NM_006915	NC	NC	1,33	1,20	1,22	NC	NC	1,35	1,52 *
8064868	<i>RP5-1022P6.2</i>	NM_019593	NC	NC	1,39	NC	NC	NC	NC	1,24	1,36 *
7913663	<i>RP5-886K2.1</i>	AF010144	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8169949	<i>RP6-213H19.1</i>	NM_016542	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,24 *
8004133	<i>RPAIN</i>	NM_001033002	NC	NC	NC	1,24	1,23	1,33 *	NC	NC	1,27 *
7902992	<i>RPAP2</i>	NM_024813	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8048014	<i>RPE</i>	NM_199229	1,29	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,45 *
8172056	<i>RPGR</i>	NM_000328	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,21	NC	1,31 *
8001423	<i>RPGRIPI1</i>	NM_015272	1,24	NC	NC	NC	NC	1,42 *	1,39	NC	1,43 *
8034416	<i>RPL10</i>	NM_006013	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7964830	<i>RPL10P12</i>	XM_939758	NC	-1,39	-2,53 *	-1,32	NC	1,34	-1,53	-1,22	-1,88

8100378	RPL21P44	NR_027153	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	NC	NC	1,36	*		
8014749	RPL23	NM_000978	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,29	*		
7906467	RPL27P2	XM_001722653	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC		
8086148	RPL29	ENST00000294189	-1,42	-1,35	-1,44	*	1,34	1,35	1,37	*	NC	NC	NC	
8087830	RPL29	NM_000992	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
8106528	RPL29P15	XR_038223	-1,61	NC	1,28	NC	1,37	NC	-1,52	*	NC	NC	NC	
8085407	RPL32	NM_001007073	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	NC	NC	NC	
8096765	RPL34	NM_033625	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	1,37	*	NC	NC	NC	
7956159	RPL41	NM_001035267	NC	NC	-1,28	NC	-1,29	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,28	*
7957530	RPL41	NM_021104	NC	NC	-1,56	NC	NC	NC	1,47	*	NC	1,22	NC	NC
7903010	RPL5	NM_000969	NC	NC	NC	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
8076511	RPL5	NM_000969	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
8119595	RPL7L1	NM_198486	NC	NC	-1,38	NC	NC	NC	1,53	*	NC	NC	NC	NC
8090490	RPN1	NM_002950	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	NC
8080773	RPP14	NM_001098783	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,39	*	NC	NC	1,29	NC
7929116	RPP30	NM_006413	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
7952129	RPS25	NM_001028	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
8162848	RPS2P35	XR_039327	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
8171762	RPS6KA3	NM_004586	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,22	*	NC	NC	1,28	*
7909661	RPS6KC1	NM_012424	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	1,30	*
8167897	RRAGB	NM_016656	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,24	NC	1,39	NC	1,36	*
7915160	RRAGC	NM_022157	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	1,31	*
8128123	RRAGD	NM_021244	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,39	*
7937915	RRM1	NM_001033	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,34	*	NC	NC	1,26	*
8152133	RRM2B	NM_015713	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,38	*
7994565	RRN3	NM_018427	NC	NC	NC	NC	1,27	1,27	1,35	*	1,36	NC	1,33	*
7996608	RRN3	NM_018427	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
8000200	RRN3	NM_018427	NC	NC	NC	NC	1,29	1,29	1,34	*	1,36	NC	1,34	*
8068902	RRP1B	NM_015056	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	NC
7946211	RRP8	NM_015324	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	1,22	*
8133809	RSBN1L	NM_198467	NC	NC	-1,33	NC	NC	NC	1,50	*	1,25	NC	NC	NC
7950606	RSF1	NM_016578	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	1,29	1,39	*
7989013	RSL24D1	NM_016304	-1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	1,28	*
7915032	RSPO1	NM_001038633	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
8152314	RSPO2	NM_178565	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	NC
8064407	RSPO4	NM_001029871	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7995994	RSPRY1	NM_133368	NC	NC	NC	NC	1,29	NC	1,49	*	1,24	NC	1,33	*
7967304	RSRC2	NM_198261	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,29	*
8034555	RTBDN	NM_031429	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42	*	NC	NC	-1,25	NC
7903321	RTCD1	NM_001130841	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,25	1,24	1,31	*
8037594	RTN2	NM_005619	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8074558	RTN4R	NM_023004	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*
7940022	RTN4RL2	NM_178570	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
8095545	RUFY3	NM_001037442	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,37	*
8007435	RUNDC1	NM_173079	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,27	*
7993274	RUNDC2A	NM_032167	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	1,24	1,24	1,30	*
8151768	RUNX1T1	NM_175634	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
7905999	RUSC1	NM_001105203	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,22	*
8120927	RWDD2A	NM_033411	NC	NC	NC	NC	1,34	1,21	1,33	NC	1,33	NC	1,32	*
7906069	RXFP4	NM_181885	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,39	*
8088820	RYBP	NM_012234	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*
7920297	SI00A14	NM_020672	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,28	*	NC	-1,25	NC	NC
7920252	SI00A7	NM_002963	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	NC
8106411	SI00Z	NM_130772	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	1,26	NC	NC	NC	1,48	*
8033956	SIPR2	NM_004230	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,21	NC
7946957	SAAL1	NM_138421	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,34	*
7941122	SAC3D1	NM_013299	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,29	*
8079346	SACM1L	NM_014016	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,35	*	1,43	1,29	1,45	*
7970569	SACS	NM_014363	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,32	*
8024936	SAFB	NM_002967	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	1,27	NC	1,36	*
8032974	SAFB2	NM_014649	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7977761	SALL2	NM_005407	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	-1,23	NC
8067087	SALL4	NM_020436	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	-1,26	NC
8034754	SAMD1	NM_138352	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,30	*
8067792	SAMD10	NM_080621	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*
8073645	SAMM50	NM_015380	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*
8109428	SAP30L	NR_024084	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,33	*	NC	NC	1,22	NC
8114193	SAR1B	NM_001033503	NC	NC	NC	NC	1,29	NC	1,47	*	NC	NC	1,25	NC
8164940	SARDH	NM_001134707	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC
7941478	SART1	NM_005146	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,30	*	NC	NC	1,29	*
7966098	SART3	NM_014706	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	NC	1,54	*
8012247	SAT2	NM_133491	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*	NC	NC	NC	NC
7946516	SBF2	NM_030962	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
7994345	SBK1	NM_001024401	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*
7967420	SBNO1	NM_018183	NC	NC	1,31	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,42	*
8036103	SBSN	NM_198538	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,27	*
8030416	SCAF1	NM_021228	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
7990417	SCAMP2	NM_005697	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,31	*
8024347	SCAMP4	NM_079834	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
7990582	SCAPER	NM_020843	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,43	*

## Anexo 2

8101158	SCARB2	NM_005506	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	1,23	1,34 *
8010137	SCARNA16	NR_003013	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,27 *	NC	NC	NC
8021183	SCARNA17	NR_003003	NC	NC	NC	1,37	NC	1,30	1,20	NC	1,42 *
7943158	SCARNA9	NR_002569	-1,39	-1,41	-1,39	1,40	NC	1,53 *	NC	NC	NC
8171760	SCARNA9L	NR_023358	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *	NC	NC	NC
7911155	SCCPDH	NM_016002	NC	NC	-1,25	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC
7948662	SCGB1D4	NM_206998	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8102751	SCLT1	NM_144643	NC	NC	1,26	1,22	1,20	NC	NC	1,28	1,41 *
7952011	SCN2B	NM_004588	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7952004	SCN4B	NM_174934	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
8086222	SCN5A	NM_001099404	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7896882	SCNN1D	NM_001130413	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8012823	SCO1	NM_004589	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	1,34 *
8008646	SCPEP1	NM_021626	NC	NC	NC	1,21	1,36	1,31	NC	1,23	1,41 *
8153497	SCRIB	NM_182706	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8138824	SCRN1	NM_014766	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	1,23	1,34 *
8064384	SCRT2	NM_033129	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
7945498	SCT	NM_021920	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,28 *
8054846	SCTR	NM_002980	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8148796	SCXA	NM_001008271	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,27 *
8148821	SCXA	NM_001008271	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,27 *
8095802	SDAD1	NM_018115	NC	NC	-1,62 *	NC	NC	1,31	NC	NC	-1,24
8101099	SDAD1	NM_018115	NC	-1,24	NC	NC	1,22	1,32 *	NC	NC	NC
8050557	SDCI	NM_001006946	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	-1,25	NC	NC
8064418	SDCBP2	NM_080489	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,27 *
7978866	SDCCAG1	NM_004713	NC	NC	NC	1,26	1,24	1,28 *	1,25	1,24	1,46 *
7911017	SDCCAG8	NM_006642	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
8013741	SDF2	NM_006923	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8093039	SDHALP1	NR_003264	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,28 *
8131205	SDK1	NM_152744	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7978335	SDR39U1	NM_020195	NC	NC	-1,24	1,28	NC	1,30 *	NC	NC	NC
7966621	SDS	NM_006843	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,21
8013602	SEBOX	NM_001080837	NC	-1,20	NC	-1,24	NC	-1,34 *	-1,21	NC	-1,37 *
8030092	SEC1	NR_004401	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,48 *	NC	NC	-1,38 *
8075375	SEC14L3	NM_174975	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
7922550	SEC16B	NM_033127	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7904695	SEC22B	NM_004892	NC	NC	NC	1,31	1,22	1,36 *	1,21	NC	1,33
8086406	SEC22C	NM_004206	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
7930956	SEC23IP	NM_007190	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,24	NC	1,42 *
8083826	SEC62	NM_003262	NC	-1,20	NC	1,36	1,28	1,30 *	1,25	NC	1,20
8128650	SEC63	NM_007214	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,21	1,27	1,29 *
8020254	SEHIL	NM_031216	NC	NC	1,32 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
7980547	SELIL	NM_005065	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
8075462	SELM	NM_080430	-1,27	NC	-1,38	NC	NC	NC	-1,37	NC	-1,57 *
8028730	SELV	NM_182704	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8140534	SEMA3C	NM_006379	NC	NC	1,35	NC	NC	NC	NC	NC	1,45 *
8140686	SEMA3D	NM_152754	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8079896	SEMA3F	NM_004186	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8090044	SEMA5B	NM_001031702	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7919898	SEMA6C	NM_030913	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,20 *
8084607	SENP2	NM_021627	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	1,33 *
8004485	SENP3	NM_015670	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8084971	SENP5	NM_152699	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8120758	SENP6	NM_015571	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,21	NC	1,21
8089203	SENP7	NM_020654	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	1,26
7896742	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
7911329	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,34	1,23	NC	NC	NC	NC	1,32 *
7911347	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
7945342	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8031990	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8085054	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8110670	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8137666	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8148964	SEPT14	NM_207366	NC	NC	1,26	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8049827	SEPT2	NM_001008492	NC	NC	1,26	1,31	1,27	NC	1,22	NC	1,36 *
7916836	SERBP1	NM_001018067	NC	NC	1,43	NC	NC	NC	NC	NC	1,51 *
7983290	SERF2	NM_001018108	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
7988227	SERINC4	NM_001033517	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7981078	SERPINA11	NM_001080451	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,29 *
7981059	SERPINA6	NM_001756	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,23
8021594	SERPINB12	NM_080474	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8021653	SERPINB8	NM_002640	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *
8071420	SERPIND1	NM_000185	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
7994985	SETD1A	NM_014712	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,23	-1,25	NC	-1,32 *
7959314	SETD1B	NM_015048	NC	1,25	NC	-1,47	-1,45	-1,34	-1,62	NC	-1,49 *
8102848	SETD7	NM_030648	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *
7969114	SETDB2	NM_031915	NC	NC	NC	1,22	NC	1,31 *	1,21	NC	1,31
8013833	SEZ6	NM_178860	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,21 *
8000716	SEZ6L2	NM_012410	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8075343	SF3A1	NM_005877	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *



8024420	SF3A2	NM_007165	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,31	*	
7914791	SFPQ	NM_005066	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	
7935528	SFRP5	NM_003015	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,31	*	
8105714	SFRS12	NM_139168	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	1,24	NC	1,40	*
8035581	SFRS14	NM_001017392	NC	NC	NC	1,28	1,23	1,27	1,44	NC	NC	1,44	*	
7962499	SFRS2IP	NM_004719	NC	NC	NC	NC	1,27	1,28	*	NC	NC	NC	NC	
8119080	SFRS3	NM_003017	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,36	*	NC	NC	NC	NC	
7914235	SFRS4	NM_005626	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	
8124855	SFTA2	NM_205854	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC	
8179709	SFTA2	NM_205854	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC	
7928602	SFTPA1B	NM_005411	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	NC	
7928632	SFTPA1B	NM_005411	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	NC	
7934698	SFTPA2	NM_001098668	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
7934708	SFTPA2	NM_001098668	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
8053467	SFTPB	NM_000542	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8145047	SFTPC	NM_003018	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	
7934719	SFTPD	NM_003019	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC	
7929919	SFXN3	NM_030971	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	
7936641	SFXN4	NM_213649	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	NC	
8041582	SGK493	NM_138370	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	
7928171	SGPL1	NM_003901	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8048717	SGPP2	NM_152386	-1,26	NC	-1,45	NC	-1,21	NC	-1,42	-1,30	-1,49	*		
8073259	SGSM3	NM_015705	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	NC	
7928723	SH2D4B	NM_207372	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,22	*	
7913290	SH2D5	NM_001103161	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC	
8043157	SH2D6	NM_198482	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC	
8085556	SH3BP5	NM_004844	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,22	NC	NC	NC	
8016232	SH3D20	NM_174919	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,21	*	
8044295	SH3RF3	NM_001099289	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,23	-1,26	NC	-1,31	*		
8049969	SH3YL1	NM_015677	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*	1,22	NC	1,28	NC	
7950042	SHANK2	NM_012309	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC	
8074131	SHANK3	NM_001080420	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,22	NC	
8153652	SHARPIN	NM_030974	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,23	*	
8161255	SHB	NM_003028	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
8162216	SHC3	NM_016848	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC	
8141133	SHFM1	NM_006304	NC	NC	NC	1,27	NC	1,39	*	1,31	1,34	1,47	*	
8144078	SHH	NM_000193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,31	*	
7956401	SHMT2	NM_005412	NC	-1,20	-1,35	NC	NC	1,31	*	NC	NC	NC	NC	
8165723	SHOX	NM_000451	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	NC	
8176297	SHOX	NM_000451	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	NC	
8091698	SHOX2	NM_006884	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC	
8130038	SHPRH	NM_001042683	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*	
8114068	SHROOM1	NM_133456	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC	
8172698	SHROOM4	NR_027121	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	
8091485	SLAH2	NM_005067	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	
7974054	SIP1	NM_003616	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,23	NC	1,23	NC	1,23	*
8116956	SIRT5	NM_031244	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,37	*	NC	NC	NC	NC	
7979510	SIX4	NM_017420	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC	
8037651	SIX5	NM_175875	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC	
7943707	SKCG-1	AY662656	NC	-1,23	NC	NC	1,22	-1,22	*	NC	NC	NC	NC	
8083876	SKIL	NM_005414	NC	NC	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,51	*	
8105353	SKIV2L2	NM_015360	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	
7921516	SLAMF9	NM_033438	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,21	*	
8176109	SLC10A3	NM_019848	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	
8094960	SLC10A4	NM_152679	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC	
7963212	SLC11A2	NM_000617	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,32	*		
8063129	SLC12A5	NM_020708	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,31	*	-1,21	NC	NC	NC	
7987192	SLC12A6	NM_001042496	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
8011975	SLC13A5	NM_177550	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	NC	NC	
8021058	SLC14A2	NM_007163	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	
7967624	SLC15A4	NM_145648	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	
7918622	SLC16A1	NM_003051	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	
8012006	SLC16A11	NM_153357	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	
7934936	SLC16A12	NM_213606	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,22	*	
8076002	SLC16A8	NM_013356	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,28	*	
8124337	SLC17A1	NM_005074	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC	
8124365	SLC17A2	NM_005835	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC	
8038367	SLC17A7	NM_020309	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,20	*	
7957819	SLC17A8	NM_139319	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	
8149592	SLC18A1	NM_001135691	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC	
8070912	SLC19A1	NM_194255	NC	NC	NC	-1,26	-1,26	-1,27	*	-1,24	NC	-1,21	NC	
7940737	SLC22A10	NM_001039752	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	NC	
8130582	SLC22A2	NM_003058	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC	
7948920	SLC22A6	NM_004790	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	
7984276	SLC24A1	NM_004727	NC	NC	-1,25	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	NC	
7976263	SLC24A4	NM_153646	1,23	NC	1,45	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,39	*	
8011747	SLC25A11	NM_003562	NC	-1,24	-1,30	NC	1,21	1,46	*	NC	NC	NC	NC	
8141107	SLC25A13	NM_014251	1,21	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	
7945539	SLC25A22	NM_024698	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	
8033190	SLC25A23	NM_024103	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,24	NC	-1,28	-1,25	-1,47	*	

## Anexo 2

7935639	SLC25A28	NM_031212	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	
8152255	SLC25A32	NM_030780	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,20	NC	1,28	*
8033179	SLC25A41	NM_173637	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
8098848	SLC26A1	NM_213613	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		NC	NC	-1,22	*
7985636	SLC28A1	NM_004213	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	NC
7983447	SLC28A2	NM_004212	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,24	*
8063177	SLC2A10	NM_030777	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,24	*
7962327	SLC2A13	NM_052885	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,24	*
7912211	SLC2A7	NM_207420	NC	NC	NC	NC	NC	NC		-1,22	NC	-1,22	*
8099326	SLC2A9	NM_020041	NC	NC	1,31	NC	NC	NC		NC	NC	1,43	*
7924342	SLC30A10	NM_018713	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,20	
7903369	SLC30A7	NM_133496	NC	NC	1,27	*	NC	NC		NC	NC	1,24	*
8094848	SLC30A9	NM_006345	NC	NC	NC	1,23	1,21	1,26	*	NC	NC	NC	NC
8091637	SLC33A1	NM_004733	NC	NC	NC	NC	NC	1,27		1,23	NC	1,43	*
8110347	SLC34A1	NM_003052	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,35	*
8159627	SLC34A3	NM_080877	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,27	*
8123825	SLC35B3	NM_015948	NC	NC	NC	NC	NC	1,22		NC	NC	1,30	*
7916808	SLC35D1	NM_015139	NC	1,24	NC	NC	NC	NC		1,24	NC	1,29	*
7956978	SLC35E3	NM_018656	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,27	*
7910618	SLC35F3	NM_173508	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,21	*
7979387	SLC35F4	NM_001080455	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	NC
8054771	SLC35F5	NM_025181	NC	NC	1,28	NC	NC	NC		NC	NC	1,33	*
8143367	SLC37A3	NM_207113	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*	1,34	NC	1,46	*
7962559	SLC38A4	NM_018018	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC
7974816	SLC38A6	NM_153811	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,26	*
8003077	SLC38A8	NM_001080442	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,24	
8018082	SLC39A11	NM_139177	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,21	*
7975344	SLC39A9	NM_018375	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,29	*
7940717	SLC3A2	NM_001012661	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,24	NC	1,24	*
8125149	SLC4A4	NM_025257	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	-1,28	*
8178653	SLC4A4	NM_025257	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	-1,28	*
8179861	SLC4A4	NM_025257	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	-1,28	*
8111417	SLC45A2	NM_016180	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,31	*
7923792	SLC45A3	NM_033102	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21		NC	-1,22	-1,32	*
7970793	SLC46A3	NM_181785	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,23	NC	1,36	*
8064613	SLC4A11	NM_032034	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,26	*
8048673	SLC4A3	NM_201574	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,29	*
8005529	SLC5A10	NM_152351	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,23	*
7947165	SLC5A12	NM_178498	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	NC
7995222	SLC5A2	NM_003041	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	-1,20	-1,24	*
7901316	SLC5A9	NM_001135181	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,23	
8077817	SLC6A11	NM_014229	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
7960201	SLC6A13	NM_016615	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC		NC	NC	-1,28	*
8104281	SLC6A18	NM_182632	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,24	*
7995714	SLC6A2	NM_001043	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8086540	SLC6A20	NM_020208	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23		NC	NC	-1,33	*
8074701	SLC7A4	NM_004173	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,28	*
8002237	SLC7A60S	NM_032178	NC	NC	NC	1,22	NC	NC		1,23	NC	1,24	*
8110688	SLC9A3	NM_004174	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,22	*
7954312	SLC01C1	NM_017435	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	NC
7942569	SLC02B1	NM_001145211	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8063923	SLC04A1	NM_016354	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	-1,27	NC	-1,21	
8014257	SLFN12L	NM_001145027	NC	-1,39	-1,32	1,31	1,36	1,42	*	1,22	NC	NC	NC
8006531	SLFN5	NM_144975	NC	NC	1,25	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	NC
7915351	SLFNL1	NM_144990	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	NC
7969569	SLITRK5	NM_015567	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,41	*
7930276	SLK	NM_014720	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,26	1,32	1,37	*
8080685	SLMAP	NM_007159	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,28	*
8097600	SMARCA5	NM_003601	NC	NC	1,25	NC	NC	NC		NC	NC	1,32	*
8048175	SMARCAL1	NM_014140	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,43	*	NC	NC	NC	NC
8015039	SMARCE1	NM_003079	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,25	*
8156982	SMC2	NM_001042551	NC	NC	1,21	1,22	NC	NC		1,31	NC	1,45	*
8083709	SMC4	NM_005496	NC	NC	NC	1,28	NC	1,35	*	1,30	NC	1,35	*
8155770	SMC5	NM_015110	NC	NC	NC	1,22	NC	1,22	*	1,24	1,20	1,34	*
8050443	SMC6	NM_001142286	NC	NC	NC	1,29	1,21	1,34	*	1,37	NC	1,49	*
8019877	SMCHD1	NM_015295	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,23	NC	1,36	*
7980833	SMEK1	NM_032560	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	1,29	*
8052307	SMEK2	NM_001122964	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,23	NC	1,30	*
7975390	SMOC1	NM_001034852	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	NC
7899407	SMPDL3B	NM_014474	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	NC
8075458	SMTN	NM_134270	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC		NC	NC	-1,35	*
8003892	SMTNL2	NM_001114974	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,21	*
8141241	SMURF1	NM_020429	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	1,32	*
7925589	SMYD3	NM_022743	NC	NC	-1,21	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	NC
8042705	SMYD5	NM_006062	NC	-1,25	-1,38	*	NC	NC		NC	-1,26	-1,27	*
8150698	SNAI2	NM_003068	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	NC
7983111	SNAP23	NM_003825	NC	NC	NC	NC	1,20	NC		NC	NC	1,22	*
7989924	SNAPC5	NM_006049	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	1,21	NC	1,24	*
7905598	SNAPIN	NM_012437	NC	NC	1,23	NC	NC	NC		1,22	NC	1,34	*
7914202	SNHG12	AF277181	NC	NC	NC	1,38	NC	1,42	*	NC	NC	1,29	

7977075	SNORA28	NR_002964	NC	NC	-1,44	NC	1,53	1,66 *	NC	1,38	NC
8130580	SNORA29	NR_002965	1,30	NC	NC	NC	1,30	1,48 *	1,56	NC	1,60 *
8118207	SNORA38	NR_002971	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *	NC	NC	1,42 *
8009380	SNORA38B	NR_003706	NC	NC	-1,29	-1,49	-1,59	-1,53	-1,78	-1,62	-1,97 *
8139482	SNORA5A	NR_002919	-1,39	NC	-1,49	1,22	1,34	1,83 *	NC	NC	1,23
8069985	SNORA80	NR_002996	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,27 *
8122142	SNORD101	NR_002434	NC	NC	1,25	1,32	NC	NC	1,29	1,29	1,32 *
7903022	SNORD21	NR_000006	1,25	NC	1,30	NC	1,24	1,29	1,49	1,35	1,68 *
7948896	SNORD22	NR_000008	1,29	NC	NC	1,24	1,21	1,44	1,60	1,23	1,56 *
8117746	SNORD32B	NR_003049	-1,26	NC	-1,83 *	NC	1,33	NC	-1,34	1,32	-1,71 *
8030364	SNORD34	NR_000019	NC	-1,21	-2,21 *	-1,36	1,30	1,50	-1,28	NC	-1,47
7901050	SNORD38A	NR_001456	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	NC	NC	1,40 *
7901052	SNORD38B	NR_001457	1,33	1,30	-1,40	NC	NC	1,65 *	1,28	1,54	NC
8005953	SNORD4A	NR_000010	NC	-1,49	-1,38	1,34	1,52	2,06 *	1,51	NC	1,49
8127987	SNORD50A	NR_002743	-1,77	NC	-2,11 *	1,22	NC	1,56	-1,45	NC	-1,36
8127989	SNORD50B	NR_003044	-1,52	NC	NC	1,56	1,29	1,78 *	NC	1,29	1,58
8150877	SNORD54	NR_002437	-2,13	-1,29	-2,09 *	1,40	1,43	1,85 *	-1,52	NC	NC
8097792	SNORD73A	NR_000007	1,63	NC	1,20	NC	1,45	1,47	1,68	1,48	1,77 *
8030199	SNRNP70	NM_003089	NC	NC	1,23	1,22	NC	NC	1,27	1,20	1,35 *
8071920	SNRPD3	NM_004175	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7957649	SNRPF	NM_003095	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	1,32 *
7981947	SNRPN //	NR_001295	NC	NC	-2,58 *	-1,40	NC	1,31	-1,26	NC	-1,97 *
7982098	SNRPN //	NR_001295	NC	NC	-2,58 *	-1,40	NC	1,31	-1,26	NC	-1,97 *
8065683	SNTA1	NM_003098	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7996908	SNTB2	NM_006750	NC	NC	NC	1,23	NC	1,32 *	1,23	NC	NC
7980463	SNW1	NM_012245	NC	NC	NC	1,24	NC	1,25 *	1,21	NC	1,35 *
8131957	SNX10	NM_013322	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,31	1,35 *
8127943	SNX14	NM_153816	NC	NC	NC	NC	1,28	1,38 *	NC	NC	1,25
7941111	SNX15	NM_013306	NC	NC	-1,29	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8028030	SNX26	NM_052948	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *
8157253	SNX30	NM_001012994	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,33 *
8090256	SNX4	NM_003794	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,35 *
8121319	SOBP	NM_018013	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7974447	SOCS4	NM_199421	NC	NC	NC	1,21	NC	1,34 *	1,32	NC	1,21
8165038	SOHLH1	NM_001012415	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7991877	SOLH	NM_005632	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,23	NC	-1,31 *
8145151	SORBS3	NM_005775	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,42 *
8040070	SOX11	NM_003108	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7908993	SOX13	NM_005686	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *
8082926	SOX14	NM_004189	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8012220	SOX15	NM_006942	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,20
8067798	SOX18	NM_018419	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,25 *
8175528	SOX3	NM_005634	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8115516	SOX30	NM_178424	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,23 *
7992125	SOX8	NM_014587	NC	NC	NC	NC	1,22	-1,34 *	NC	NC	NC
8009517	SOX9	NM_000346	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,26 *
8046276	SP5	NM_001003845	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,29
8138474	SP8	NM_198956	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,21
8065652	SPAG4L	NM_080675	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8013671	SPAG5	NM_006461	NC	-1,25	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8016745	SPAG9	NM_001130528	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8175543	SPANXC	NM_022661	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8049007	SPATA3	NM_139073	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,34 *
8097262	SPATA5	NM_145207	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
7976084	SPATA7	NM_018418	NC	1,23	NC	NC	NC	1,22	1,20	NC	1,26 *
7986340	SPATA8	NM_173499	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,22 *
8148703	SPATC1	NM_198572	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,30 *
8120011	SPATS1	NM_145026	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7955217	SPATS2	NM_023071	-1,48	NC	NC	NC	NC	1,42 *	-1,28	NC	1,25
8012528	SPDYE4	NM_001128076	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8133571	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,29	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *
8133582	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8133590	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,32	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *
8133600	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *
8139996	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,30	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *
8140009	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *
8140211	SPDYE8P	NR_003664	NC	-1,21	-1,29	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *
8140445	SPDYE8P	NR_003664	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *
8048551	SPEG	NM_005876	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8004394	SPEMI	NM_199339	NC	NC	NC	NC	NC	-1,48 *	NC	NC	-1,30
7988286	SPG11	NM_025137	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8030078	SPHK2	NM_020126	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8173181	SPIN3	NR_027139	NC	NC	NC	1,21	NC	1,34 *	1,37	NC	NC
8066542	SPINLW1	NM_020398	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7998015	SPIRE2	NM_032451	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8003875	SPNS2	NM_001124758	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,21
8016562	SPOP	NM_001007230	NC	NC	NC	1,23	NC	1,30 *	1,30	1,23	1,37 *
8045514	SPOPL	NM_001001664	NC	NC	NC	1,23	1,27	1,23	1,23	1,31	1,37 *
7905553	SPRR1B	NM_003125	NC	NC	NC	-1,23	-1,28	-1,26	NC	NC	-1,34 *
7905536	SPRR4	NM_173080	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,43 *	NC	-1,22	-1,40 *

## Anexo 2

8083071	SPSB4	NM_080862	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *	NC	NC	-1,35 *
8158317	SPTANI	NM_001130438	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	NC
7980438	SPTLC2	NM_004863	NC	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	1,32 *
8148280	SQLE	NM_003129	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,35 *
7983512	SQRDL	NM_021199	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8119712	SRF	NM_003131	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7973902	SRP54	NM_003136	NC	NC	NC	1,32	NC	1,30 *	NC	NC	1,41 *
8018600	SRP68	NM_014230	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *	NC	NC	1,32 *
7935002	SRP9	NM_003133	NC	NC	NC	1,22	NC	1,25 *	1,24	1,20	NC
7952557	SRPR	NM_003139	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	1,26 *
8168749	SRPX2	NM_014467	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8072113	SRRD	NM_001013694	NC	NC	NC	1,25	NC	1,31 *	NC	NC	NC
8022625	SS18	NM_001007559	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
8046201	SSB	NM_003142	NC	NC	NC	1,29	1,23	NC	1,25	1,21	1,38 *
8027006	SSBP4	NM_032627	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *
8137183	SSPO	NM_198455	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	-1,24	-1,32 *
8123767	SSR1	NM_003144	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	1,27 *
8061366	SSTR4	NM_001052	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,28 *
7992145	SSTR5	NM_001053	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,27 *
8167721	SSX8	NR_027250	NC	NC	1,27	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	NC
7990815	ST20	NM_001100880	NC	NC	NC	1,23	NC	1,46 *	1,28	NC	1,23
8153021	ST3GALI	NM_003033	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8113358	ST8SIA4	NM_005668	NC	NC	NC	1,35	1,28	1,27	1,22	1,22	1,40 *
8023121	ST8SIA5	NM_013305	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7958056	STAB2	NM_017564	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8055890	STAM2	NM_005843	NC	NC	NC	NC	1,21	1,23	1,20	NC	1,35 *
8132376	STARDBNL	NM_032016	NC	NC	-1,27	NC	NC	1,39 *	NC	NC	NC
8113491	STARD4	NM_139164	NC	1,23	NC	NC	NC	1,27	NC	NC	1,45 *
8057744	STAT1	NM_007315	NC	NC	NC	NC	1,26	1,25	NC	1,26	1,39 *
7964119	STAT2	NM_005419	NC	NC	NC	NC	1,25	1,27 *	NC	NC	NC
8151384	STAU2	NM_014393	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
7973962	STELLAR	BC062480	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *
7915926	STIL	NM_001048166	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *
7940857	STIP1	NM_006819	NC	NC	-1,21	NC	NC	1,51 *	1,25	NC	1,25
8179391	STK19	NR_026717	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8160968	STOML2	NM_013442	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8051443	STRN	NM_003162	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7978428	STRN3	NM_001083893	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	1,30 *
8034631	STX10	NM_003765	NC	NC	NC	1,20	NC	1,26 *	NC	NC	NC
8156861	STX17	NM_017919	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,22
8099121	STX18	NM_016930	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7967685	STX2	NM_194356	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	NC	1,36 *
7940191	STX3	NM_004177	1,21	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7995017	STX4	NM_004604	NC	NC	NC	1,37	NC	1,31 *	1,26	NC	1,24
8129590	STX7	NM_003569	NC	NC	1,28	NC	NC	1,24	1,33	NC	1,58 *
7971541	SUCLA2	NM_003850	NC	NC	1,30	NC	NC	NC	NC	NC	1,56 *
8110415	SUDS3	NM_022491	NC	NC	NC	1,27	1,26	1,36 *	1,31	1,45	1,46 *
7969271	SUGT1	NM_001130912	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,36 *
8030067	SULT2B1	NM_004605	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
8132964	SUMF2	NM_015411	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8122684	SUMO4	NM_001002255	1,30	1,32	1,68 *	NC	NC	NC	1,23	1,24	1,42 *
7977674	SUPT16H	NM_007192	NC	NC	NC	1,24	NC	1,21	1,21	NC	1,27 *
8005903	SUPT6H	NM_003170	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8071861	SUSD2	NM_019601	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,32 *
8086051	SUSD5	NM_015551	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
7949931	SUV420HI	NM_017635	NC	NC	NC	1,29	NC	1,39 *	1,29	NC	1,29
8006183	SUZ12P	NR_024187	-1,25	-1,32	-1,36	1,26	1,23	1,43 *	NC	NC	NC
7986195	SV2B	NM_014848	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8106336	SV2C	NM_014979	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,24 *
7966172	SVOP	NM_018711	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7913814	SYF2	NM_015484	NC	1,20	NC	NC	NC	1,23	1,23	1,31	1,40 *
8156321	SYK	NM_003177	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
8172317	SYN1	NM_006950	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8075616	SYN3	NM_003490	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8118696	SYNGAP1	NM_006772	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,22	-1,31 *
8030015	SYNGR4	NM_012451	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,27
8109305	SYNPO	NM_007286	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	-1,21	NC	-1,32 *
8080855	SYNPR	NM_144642	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8039378	SYT5	NM_003180	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,22
7948588	SYT7	NM_004200	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	-1,22 *
7937713	SYT8	NM_138567	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,44 *
8129604	TAAR5	NM_003967	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8122129	TAAR8	NM_053278	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7931031	TACC2	NM_206862	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7934074	TACR2	NM_001057	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8085220	TADA3L	NM_133480	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8168303	TAF1	NM_004606	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8125859	TAF11	NM_005643	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8006573	TAF15	NM_139215	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *
8040173	TAF1B	NM_005680	NC	NC	NC	1,21	1,24	1,25	NC	NC	1,33 *

8152553	TAF2	NM_003184	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
7930213	TAF5	NM_006951	NC	NC	NC	1,21	NC	1,36	*	1,28	1,27	1,43	*
8112458	TAF9	NM_003187	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC
7966851	TAOK3	NM_016281	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	1,25	NC	1,32	*
7925130	TARBP1	NM_005646	1,24	NC	NC	NC	NC	1,31	*	1,30	NC	1,31	*
8104760	TARS	NM_152295	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*
7897295	TASIR1	NM_138697	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
7912968	TASIR2	NM_152232	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	-1,21	NC	NC
7896921	TASIR3	NM_152228	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,22	NC
8110960	TAS2R1	NM_019599	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
8143482	TAS2R38	NM_176817	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
8077804	TATDN2	NM_014760	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	NC
8131975	TAX1BP1	NM_006024	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
8075332	TBCID10A	NM_031937	NC	NC	-1,28	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	NC
7929424	TBCID12	NM_015188	NC	NC	1,38	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,42	*
8030539	TBCID17	NM_024682	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*
7984759	TBCID21	NM_153356	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,27	*
8081256	TBCID23	NM_018309	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,41	*
7992639	TBCID24	NM_020705	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,26	*
8005117	TBCID26	NM_178571	NC	NC	1,23	-1,30	NC	-1,67	*	-1,34	NC	-1,37	*
8013294	TBCID28	NM_001039397	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	-1,21	-1,21	NC
8006161	TBCID29	NM_015594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,27	*
7985224	TBCID2B	NM_144572	NC	NC	NC	NC	NC	1,42	*	NC	NC	1,41	NC
7990657	TBCID2B	NM_144572	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	1,23	NC	1,24	*
8071276	TBX1	NM_080647	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,21	NC
8008982	TBX4	NM_018488	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*
7966668	TBX5	NM_181486	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
8000779	TBX6	NM_004608	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,23	*
8032623	TBXA2R	NM_001060	NC	NC	-1,20	-1,22	-1,32	-1,33		-1,33	-1,25	-1,60	*
7945344	tcag7.907	NR_024368	NC	-1,21	-1,32	NC	1,24	1,45	*	NC	NC	NC	NC
8174134	TCEAL6	NM_001006938	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	1,21	1,20	NC	NC
8171350	TCEANC	NM_152634	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,46	*	NC	NC	-1,28	NC
8151413	TCEB1	NM_005648	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
8023156	TCEB3C	NM_145653	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
8023154	TCEB3CL	NM_001100817	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
7937059	TCEGIL	NM_174937	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
8064370	TCF15	NM_004609	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8122176	TCF21	NM_003206	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
8032290	TCF3	NM_003200	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC		-1,22	NC	-1,32	*
8108050	TCF7	NM_003202	NC	NC	-1,27	NC	NC	-1,28		-1,36	-1,30	-1,63	*
8069987	TCPI0L	NM_144659	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	NC
8125870	TCPI11	NM_001093728	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	NC
8093096	TCTEXID2	NM_152773	NC	1,26	NC	NC	-1,22	1,32	*	1,27	NC	NC	NC
7935251	TCTN3	NM_015631	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	NC
7958147	TDG	NM_003211	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,44	*
7905801	TDRD10	NM_001098475	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	NC
8156688	TDRD7	NM_014290	1,26	NC	NC	NC	NC	NC		1,27	NC	1,35	*
8119386	TDRG1	DQ168992	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
7953150	TEAD4	NM_003213	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24		NC	NC	-1,25	*
8154692	TEK	NM_000459	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
7955663	TENCI	NM_170754	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
7996164	TEPP	NM_199046	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,26	*
8135576	TES	NM_015641	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	*
7992716	TESSP1	NM_001135086	-1,23	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	NC
8086683	TESSP2	NM_182702	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
8086669	TESSP5	NM_199183	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,21	*
8029289	TEX101	NM_031451	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8174375	TEX13B	NM_031273	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20		NC	NC	-1,23	*
8176006	TEX28	NM_001586	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*
8176012	TEX28	NM_001586	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*
7927669	TFAM	NM_003201	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	1,24	1,28	*
8063536	TFAP2C	NM_003222	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	NC
7900001	TFAP2E	NM_178548	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22		NC	NC	-1,33	*
7999102	TFAP4	NM_003223	NC	NC	NC	NC	NC	NC		-1,26	-1,23	-1,34	*
8130438	TFB1M	NM_016020	NC	NC	NC	1,24	NC	1,31		1,24	NC	1,37	*
8142452	TFEC	NM_012252	1,26	NC	1,48	NC	1,21	NC		1,49	1,39	1,75	*
8070574	TFF2	NM_005423	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8141560	TFR2	NM_003227	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	NC
8062319	TGIF2	NM_021809	NC	NC	-1,29	*	NC	NC		NC	NC	NC	NC
8079279	TGM4	NM_003241	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,22	*
7945712	TH	NM_199292	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC
8063697	THIL	NM_198976	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	*	NC	NC	NC	NC
7996675	THAP11	NM_020457	NC	NC	-1,31	NC	NC	NC		NC	NC	-1,33	*
7920100	THEM5	NM_182578	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC		-1,21	NC	-1,38	*
8109576	THG1L	NM_017872	NC	NC	NC	NC	NC	NC		1,23	NC	1,32	*
8021924	THOC1	NM_005131	NC	NC	1,30	NC	NC	1,23		1,37	1,22	1,60	*
8174893	THOC2	NM_001081550	NC	NC	NC	1,24	NC	NC		1,22	NC	1,29	*
8110408	THOC3	NM_032361	NC	NC	1,23	NC	NC	NC		NC	NC	1,27	*
8115886	THOC3	NM_032361	NC	NC	1,25	NC	NC	NC		NC	NC	1,28	*
8019273	THOC4	NM_005782	-1,33	NC	-1,33	1,43	1,22	1,50	*	NC	NC	NC	NC

## Anexo 2

8019772	THOC4	NM_005782	-1,31	NC	-1,35	1,43	1,23	1,54 *	NC	NC	NC
7992795	THOC6	NM_024339	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC
7900119	THRAP3	NM_005119	NC	NC	NC	1,21	NC	NC *	NC	NC	1,26 *
8000003	THUMPD1	NM_017736	NC	NC	NC	1,29	NC	NC	1,21	1,25	1,33 *
8077513	THUMPD3	NM_015453	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	NC	1,40 *
8032899	TICAM1	NM_182919	NC	NC	-1,21	-1,30	-1,25	-1,23	-1,20	NC	-1,48 *
8113623	TICAM2	NM_021649	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
8096411	TIGD2	NM_145715	1,27	NC	NC	NC	NC	1,21	1,34	1,21	1,36 *
8148655	TIGD5	NM_032862	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	-1,20	NC	-1,24 *
7964145	TIMELESS	NM_003920	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
7908766	TIMM17A	NM_006335	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,28 *
7927519	TIMM23	NM_006327	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7933582	TIMM23	NM_006327	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8174047	TIMM8A	NM_004085	NC	NC	-1,39	1,28	NC	1,55 *	1,21	NC	NC
7979416	TIMM9	NM_012460	NC	NC	-1,45 *	NC	NC	1,22	NC	NC	NC
8072626	TIMP3	NM_000362	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,37 *
8011188	TLCD2	ENST00000330676	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8032553	TLE2	NM_003260	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
7990033	TLE3	NM_005078	NC	NC	NC	-1,43	NC	-1,36 *	-1,33	NC	-1,24
8098214	TLL1	NM_012464	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8042896	TLX2	NM_016170	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,32 *
8091402	TM4SF18	NM_138786	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8003939	TM4SF5	NM_003963	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,26
8035648	TM6SF2	NM_001001524	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,23 *
7935320	TM9SF3	NM_020123	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8058927	TMBIM1	NM_022152	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,25 *	-1,22	-1,24	-1,22 *
7990848	TMC3	NM_001080532	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7970301	TMCO3	NM_017905	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7996860	TMCO7	NM_024562	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,26 *
7959597	TMED2	NM_006815	NC	NC	NC	1,21	NC	1,20 *	NC	NC	NC
8002283	TMED6	NM_144676	NC	1,24	NC	NC	NC	1,27 *	NC	1,23	1,22 *
8019177	TMEM105	NM_178520	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,22
7955063	TMEM106C	NM_001143842	NC	-1,21	-1,44 *	NC	NC	1,35 *	NC	NC	NC
7959298	TMEM120B	NM_001080825	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC
7900654	TMEM125	NM_144626	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7942889	TMEM126A	NM_032273	NC	NC	NC	NC	NC	1,43 *	NC	1,26	1,32 *
7942879	TMEM126B	NM_018480	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *	1,29	NC	1,26
8141228	TMEM130	NM_001134450	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,32 *
7940377	TMEM132A	NM_017870	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,22 *
7967641	TMEM132D	NM_133448	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7940473	TMEM138	NM_016464	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8098041	TMEM144	NM_018342	NC	NC	1,39	NC	NC	NC	1,37	1,22	1,54 *
8029219	TMEM145	NM_173633	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8116867	TMEM14B	NM_030969	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8053449	TMEM150	NM_001031738	NC	NC	NC	-1,24	-1,25	-1,27	-1,30	NC	-1,38 *
8099850	TMEM156	NM_024943	NC	NC	-1,25	NC	NC	1,59 *	NC	NC	1,27
8086530	TMEM158	NM_015444	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8112967	TMEM167A	NM_174909	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8142407	TMEM168	NM_022484	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,35 *
8076046	TMEM184B	NM_012264	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,22	NC	-1,23 *
7999317	TMEM186	NM_015421	NC	NC	NC	1,30	NC	1,34 *	1,25	NC	1,33 *
8048628	TMEM198	NM_001005209	NC	NC	NC	NC	NC	-1,50 *	NC	NC	-1,37 *
7914232	TMEM200B	NM_001003682	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
7924150	TMEM206	NM_018252	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
8154760	TMEM215	NM_212558	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,23 *
7940479	TMEM216	NM_016499	NC	-1,23	-1,59 *	NC	NC	1,40 *	NC	NC	NC
8082905	TMEM22	NM_025246	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8035311	TMEM221	ENST00000341130	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
7933842	TMEM26	NM_178505	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8094830	TMEM33	NM_018126	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8172022	TMEM47	NM_031442	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,35 *
8008870	TMEM49	NM_030938	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
8070083	TMEM50B	NM_006134	NC	NC	NC	1,27	1,22	1,32	1,46	NC	1,37 *
7911634	TMEM52	NM_178545	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
7901687	TMEM61	NM_182532	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
7983157	TMEM62	NM_024956	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8146930	TMEM70	NM_017866	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	NC	NC	NC
7927179	TMEM72	NM_001123376	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	-1,31 *
7984511	TMEM84	NR_026949	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	-1,21 *
7982507	TMEM85	NM_016454	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	1,21	NC	1,26 *
7987869	TMEM87A	NM_015497	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	1,40 *
8087116	TMEM89	NM_001008269	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	-1,21	NC	-1,32 *
7923319	TMEM9	NM_016456	NC	NC	NC	-1,25	-1,25	-1,25	NC	NC	-1,25 *
8088700	TMF1	NM_007114	NC	NC	NC	1,28	1,25	1,27 *	1,21	1,20	1,42 *
7983734	TMOD2	NM_014548	NC	-1,27	1,24	1,31	1,40	1,20	1,38	NC	1,50 *
7957737	TMPO	NM_001032283	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,23 *
8024467	TMPRSS9	NM_182973	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8169073	TMSB15B	NM_194324	1,21	-1,24	NC	NC	1,23	1,31 *	NC	NC	1,35 *
7972579	TMTCA	NM_032813	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8118142	TNF	NM_000594	-1,29	NC	-3,20 *	-1,42	-1,82	-1,29	-1,83	-2,03	-4,13 *

8177983	TNF	NM_000594	-1,29	NC	-3,20 *	-1,42	-1,82	-1,29	-1,83	-2,03	-4,13 *
8179263	TNF	NM_000594	-1,29	NC	-3,20 *	-1,42	-1,82	-1,29	-1,83	-2,03	-4,13 *
8024885	TNFAIP8L1	NM_152362	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8149733	TNFRSF10B	NM_003842	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	1,25
8004464	TNFSF12-	NM_172089	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8004372	TNK1	NM_003985	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8144528	TNKS	NM_003747	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
7948176	TNKS1BP1	NM_033396	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,28 *
7929168	TNKS2	NM_025235	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	1,25	1,28 *
8087925	TNNC1	NM_003280	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8066590	TNNC2	NM_003279	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	-1,21 *
7923360	TNNI1	NM_003281	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,25 *
8132980	TNRC18	NM_001080495	NC	1,22	NC	-1,27	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8137953	TNRC18	NM_001080495	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *
7920027	TNRC4	NM_007185	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,32 *
8125234	TNXB	NM_019105	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8089128	TOMM70A	NM_014820	NC	NC	NC	1,25	NC	1,28 *	NC	NC	1,23 *
8062603	TOP1	NM_003286	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	1,22	NC	1,27 *
8085815	TOP2B	NM_001068	NC	NC	NC	1,24	1,23	1,27	NC	NC	1,35 *
8160581	TOPORS	NM_005802	NC	NC	NC	1,31	1,21	1,33 *	NC	1,29	1,24
8164587	TOR1A	NM_000113	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,30 *
7922637	TOR1AIP2	NM_145034	NC	NC	NC	1,29	NC	1,55 *	1,22	NC	1,31
8158560	TOR1B	NM_014506	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	NC	NC	1,28
8062782	TOX2	NM_032883	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
7924526	TP53BP2	NM_005426	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *
7947570	TP53I11	NM_001076787	NC	NC	-1,26	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,51 *
8066521	TP53TG5	NM_014477	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7897179	TP73	NM_001126240	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,29 *
8124134	TPMT	NM_000367	NC	NC	NC	NC	1,23	NC	1,27	1,31	1,36 *
8110708	TPPP	NM_007030	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
7973142	TPPP2	NM_173846	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7897172	TPRG1L	NM_182752	NC	1,24	NC	1,21	NC	1,21	1,25	1,23	1,24 *
8053036	TPRKB	NM_016058	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8077989	TPRXL	NR_002223	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,26
7992181	TPSAB1	NM_003294	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7998434	TPSAB1	NM_003294	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7998427	TPSG1	NM_012467	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *
8001938	TRADD	NM_003789	NC	-1,26	-1,29	1,29	1,27	1,31 *	NC	NC	NC
7977018	TRAF3	NM_145725	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	1,38 *
8102464	TRAMIL1	NM_152402	NC	NC	1,27 *	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
7999025	TRAP1	NM_016292	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	1,22	NC	1,22
8012304	TRAPPC1	NM_021210	NC	NC	-1,26	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,38 *
7914887	TRAPPC3	NM_014408	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	1,20	1,29 *
7944375	TRAPPC4	NM_016146	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,42	NC	1,30 *
7978739	TRAPPC6B	NM_001079537	NC	NC	NC	1,27	NC	1,34 *	1,34	NC	1,49 *
8129330	TRDN	NM_006073	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8175802	TREX2	NM_080701	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8082574	TRH	NM_007117	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,21 *
7969153	TRIM13	NM_213590	1,20	1,22	NC	NC	NC	1,22	1,29	NC	1,34 *
8162729	TRIM14	NM_014788	NC	NC	-1,26	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8117849	TRIM15	NM_033229	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8177760	TRIM15	NM_033229	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8179070	TRIM15	NM_033229	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7924874	TRIM17	NM_016102	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8124610	TRIM27	NM_006510	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8179575	TRIM27	NM_006510	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,29 *	NC	NC	NC
8124707	TRIM31	NM_007028	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8178330	TRIM31	NM_007028	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8179617	TRIM31	NM_007028	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7918725	TRIM33	NM_015906	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8117321	TRIM38	NM_006355	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	1,22	1,42 *
7918925	TRIM45	NM_025188	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8018494	TRIM47	NM_033452	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
7946089	TRIM5	NM_033034	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,22	NC	1,38 *
8098170	TRIM60	NM_152620	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
7914630	TRIM62	NM_018207	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,21	NC	-1,22 *
7910503	TRIM67	NM_001004342	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,25 *
7938012	TRIM6-TRIM34	NM_001003819	NC	NC	NC	1,24	1,25	NC	1,28	NC	1,30 *
8078435	TRIM71	NM_001039111	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	-1,22	NC	-1,32 *
7995088	TRIM72	NM_001008274	-1,26	-1,23	NC	1,22	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
7979108	TRIM9	NM_052978	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
7976241	TRIP11	NM_004239	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7980923	TRIP11	NM_004239	NC	NC	NC	NC	NC	1,51	1,40	NC	1,57 *
8059596	TRIP12	NM_004238	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *
7915261	TRIT1	NM_017646	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *	1,31	NC	1,33 *
8034615	TRMT1	NM_017722	NC	NC	NC	1,24	NC	1,29 *	1,35	NC	1,32 *
8121895	TRMT11	NM_001031712	1,20	NC	NC	NC	NC	1,26	1,29	NC	1,40 *
8148263	TRMT12	NM_017956	NC	NC	NC	1,26	NC	1,38 *	1,39	NC	1,25
8064879	TRMT6	NM_015939	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *
8051226	TRMT61B	NM_017910	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	1,34 *

## Anexo 2

7899284	TRNP1	NM_001013642	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8077353	TRNT1	NM_182916	NC	1,26	NC	NC	NC	1,29	*	1,29	1,24	1,38	*
7908421	TROVE2	NM_004600	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,29	*
7987068	TRPM1	NM_002420	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8030251	TRPM4	NM_017636	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8143518	TRPV5	NM_019841	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,21	
8143499	TRPV6	NM_018646	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,27	*
8143486	TRYX3	NM_001001317	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8141526	TSC22D4	NM_030935	NC	NC	-1,45	*	-1,30	NC	NC	-1,39	NC	-1,32	*
8044965	TSN	NM_004622	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,28	*
7990620	TSPAN3	NM_005724	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
8167763	TSPYL2	NM_022117	NC	NC	NC	NC	1,33	NC	1,38	*	NC	1,21	
8011245	TSR1	NM_018128	NC	NC	NC	1,22	1,21	1,46	*	1,21	NC	1,24	*
8167790	TSR2	NM_058163	NC	NC	NC	1,39	NC	1,37	*	NC	1,21	1,23	
8005141	TTC19	NM_017775	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	NC	NC	NC	
8068522	TTC3	NM_003316	NC	NC	NC	1,24	NC	1,28	*	1,21	NC	1,33	*
8147864	TTC35	NM_014673	NC	NC	NC	1,29	NC	1,35	*	1,33	1,20	1,55	*
8113157	TTC37	NM_014639	NC	NC	NC	1,31	NC	1,33	*	1,27	NC	1,37	*
7977482	TTC5	NM_138376	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	NC	NC	
8164729	TTF1	NM_007344	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*
7896865	TLL10	NM_153254	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,34	*
8062844	TTPAL	NM_024331	NC	NC	-1,26	1,24	NC	1,49	*	NC	NC	NC	
8020795	TTR	NM_000371	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8177282	TTY13	NR_001537	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC	
8177217	TTY14	NR_001543	NC	NC	1,33	*	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8025051	TUBB4	NM_006087	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*
8104119	TUBB4Q	NM_020040	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42	*	NC	NC	NC	
7937175	TUBGCP2	NM_006659	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7972840	TUBGCP3	NM_006322	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*
7983206	TUBGCP4	NM_014444	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	NC	
8000603	TUFM	NM_003321	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
7899703	TXLNA	NM_175852	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*
7993265	TXNDC11	NM_015914	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*
7916120	TXNDC12	NM_015913	NC	NC	NC	1,30	1,24	1,32	*	NC	NC	1,20	
7958174	TXNRD1	NM_003330	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*
8021963	TYMS	NM_001071	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	-1,27	*
7948085	TYR	NM_000372	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
7902345	TYW3	NM_138467	NC	1,29	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*
8031536	U2AF2	NM_007279	NC	NC	-1,26	*	NC	1,34	*	NC	NC	NC	
8088718	UBA3	NM_003968	NC	NC	NC	1,29	1,23	1,20	NC	1,28	NC	1,36	*
8082750	UBA5	NM_024818	NC	NC	NC	1,24	NC	1,29	*	1,33	1,32	1,36	*
8165064	UBAC1	NM_016172	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*
8108066	UBE2B	NM_003337	NC	1,20	NC	1,21	NC	1,30	*	1,20	1,26	1,21	
7986769	UBE3A	NM_130839	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,33	*
8176098	UBL4A	NM_014235	-1,30	NC	-1,25	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
7903851	UBL4B	NM_203412	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,47	*	NC	NC	-1,20	
8109597	UBLCP1	NM_145049	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,48	*	-1,38	-1,25	-1,41	*
7920912	UBQLN4	NM_020131	NC	NC	NC	-1,26	-1,20	-1,25	*	-1,22	-1,20	-1,41	*
7987981	UBR1	NM_174916	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	1,28	*
8119529	UBR2	NM_015255	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*
8146544	UBXN2B	NM_001077619	NC	NC	1,23	1,23	1,22	NC	NC	NC	1,33	1,32	*
8055404	UBXN4	NM_014607	-1,20	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
7932088	UCMA	NM_145314	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8051061	UCN	NM_003353	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8086981	UCN2	NM_033199	NC	NC	1,31	NC	NC	-1,47	*	NC	NC	NC	
7968670	UFM1	NM_016617	NC	1,21	NC	NC	NC	1,20	NC	1,29	1,24	1,24	*
8045090	UGCGL1	NM_001025777	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*
7972369	UGCGL2	NM_020121	NC	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,39	*
8042270	UGP2	NM_001001521	NC	NC	-1,25	1,28	NC	1,43	*	NC	NC	NC	
7906852	UHMK1	NM_175866	NC	NC	NC	1,24	NC	1,21	1,26	1,26	1,26	1,37	*
7965723	UHRF1BP1L	NM_015054	NC	NC	NC	1,23	1,23	NC	NC	1,30	1,34	1,34	*
8154316	UHRF2	NM_152896	1,27	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,28	1,28	*
8122724	ULBP1	NM_025218	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,27	*
7959957	ULK1	NM_003565	NC	NC	NC	-1,28	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,25	*
8082229	UMPS	NM_000373	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
7983779	UNC13C	NM_001080534	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	
8043820	UNC50	NM_014044	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	1,24	1,24	NC	1,35	*
8110237	UNC5A	NM_133369	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8145799	UNC5D	NM_080872	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	-1,21	*
8131013	UNC84A	NM_001130965	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	NC	NC	1,51	*
8088905	UNC93B3	ENST00000308076	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8050227	UNQ5830	AY358123	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8162664	UNQ5836	AY358791	NC	NC	NC	NC	NC	-1,50	*	-1,22	-1,35	-1,29	
7986248	UNQ6190	AY358245	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	NC	NC	NC	-1,34	*
8086024	UNQ6490	AY358209	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8051956	UNQ6975	AY358255	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7932041	UPF2	NM_080599	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	1,25	*
8174717	UPF3B	NM_080632	NC	1,30	1,25	NC	NC	NC	1,46	1,46	NC	1,41	*
8027938	UPK1A	NM_007000	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8036133	UPK1A	NM_007000	-1,25	-1,21	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	



7944341	UPK2	NM_006760	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	-1,24	-1,34 *
8132725	UPP1	NM_003364	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *	NC	NC	1,32 *
8168438	UPRT	NM_145052	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	1,37 *	1,28	NC	NC
8065889	UQCC	NM_018244	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
7993872	UQCRC2	NM_003366	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	NC	NC
7901212	UQCRH	ENST00000311672	-1,36	NC	-1,52 *	NC	NC	NC	1,56 *	-1,23	NC	NC
7901073	UROD	NM_000374	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
7921738	USF1	NM_007122	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,31	NC	1,29 *
8027805	USF2	NM_003367	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,22 *
8018258	USHIG	NM_173477	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8068062	USP16	NM_006447	NC	NC	NC	1,27	1,26	1,26 *	1,30	NC	NC	1,38 *
7906671	USP21	NM_001014443	NC	-1,22	-1,36 *	NC	NC	NC	1,30 *	NC	-1,25	NC
7916443	USP24	NM_015306	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8013262	USP32	NM_032582	NC	NC	1,37	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,43 *
8017212	USP32	NM_032582	NC	NC	1,33 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,43 *
7917120	USP33	NM_015017	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,30 *
8058940	USP37	NM_020935	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	1,21	NC	1,28 *
8043218	USP39	NM_006590	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	NC
8087380	USP4	NM_003363	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
7938448	USP47	NM_017944	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *
7913415	USP48	NM_032236	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34 *
8005689	USP6	NM_004505	NC	NC	1,67	1,40	1,30	NC	NC	1,24	NC	1,84 *
7926150	USP6NL	NM_014688	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	-1,25	NC	-1,28
7999326	USP7	NM_003470	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *
7983663	USP8	NM_005154	NC	NC	NC	1,21	1,32	1,33 *	NC	1,21	1,42 *	1,25 *
8166826	USP9X	NM_001039590	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *
7968333	USPL1	NM_005800	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	NC	1,28	1,33 *	1,25 *
7931553	UTF1	NM_003577	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7900201	UTP11L	NM_016037	NC	NC	NC	1,23	1,21	1,42 *	1,26	NC	1,37 *	1,25 *
8106193	UTP15	NM_032175	NC	NC	1,27	1,24	NC	NC	NC	NC	1,52 *	1,23 *
8008530	UTP18	NM_016001	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
7957890	UTP20	NM_014503	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *	1,23 *
8014081	UTP6	NM_018428	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	1,34	NC	1,57 *	1,23 *
8010783	UTS2R	NM_018949	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,35 *	1,23 *
8177137	UTY	NM_007125	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	1,23 *
8012376	VAMP2	NM_014232	NC	NC	NC	-1,22	-1,34	-1,34	-1,22	NC	-1,57 *	1,22 *
7897370	VAMP3	NM_004781	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,22 *
7992967	VASN	NM_138440	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC	-1,20
8029710	VASP	NM_003370	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,26 *	1,22 *
8015759	VAT1	NM_006373	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,22	NC	-1,29 *	1,22 *
7936552	VAX1	NM_199131	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC	1,22 *
8171013	VBP1	NM_003372	NC	NC	NC	1,26	NC	1,34	NC	1,36	1,49 *	1,22 *
8160914	VCP	NM_007126	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	NC	1,22 *	1,22 *
8176650	VCY	NM_004679	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	1,22 *
8177169	VCY	NM_004679	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	1,22 *
8146216	VDAC3	NM_001135694	NC	NC	NC	NC	NC	1,20 *	NC	NC	NC	1,22 *
7957613	VEZT	NM_017599	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,22	NC	1,31 *	1,22 *
8170179	VGLL1	NM_016267	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,27	1,22 *
8077781	VHL	NM_000551	NC	NC	NC	1,25	NC	1,30 *	1,21	NC	NC	1,22 *
8011724	VMO1	NM_182566	NC	NC	1,29	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	NC	1,22 *
8001064	VN1R3	BC107074	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	1,22 *
8071646	VPREB1	NM_007128	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,24	NC	NC	-1,30 *	1,22 *
7944382	VPS11	NM_021729	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,24	NC	NC	1,22 *
8155946	VPS13A	NM_033305	NC	NC	NC	1,22	NC	1,30 *	1,27	NC	1,32 *	1,22 *
7989387	VPS13C	NM_020821	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	1,22 *
7897890	VPS13D	NM_015378	NC	NC	NC	NC	NC	NC *	NC	NC	1,21 *	1,22 *
8053562	VPS24	NM_016079	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,28 *	1,22 *
7927972	VPS26A	NM_004896	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,24	1,29 *	1,22 *
7966332	VPS29	NM_016226	NC	NC	NC	1,23	NC	1,29 *	1,37	1,21	NC	1,22 *
7967240	VPS33A	NM_022916	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *	1,22 *
7991427	VPS33B	NM_018668	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	1,24	NC	1,28 *	1,22 *
8001149	VPS35	NM_018206	NC	NC	NC	1,23	1,22	NC	1,23	NC	1,38 *	1,22 *
7971820	VPS36	NM_016075	NC	NC	1,34	1,21	NC	NC	1,28	NC	1,48 *	1,22 *
7948504	VPS37C	NM_017966	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	1,22 *
8133339	VPS37D	NM_001077621	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	1,22 *
8052626	VPS54	NM_016516	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,36 *	1,22 *
8084541	VPS8	NM_001009921	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,26 *	1,22 *
8038515	VRK3	NM_016440	NC	NC	-1,24	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC	1,22 *
8065460	VSY1	NM_014588	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,22 *	1,22 *
7930524	VT11A	NM_145206	NC	NC	NC	1,24	1,26	1,23	1,27	1,37	1,46 *	1,22 *
7979732	VT11B	NM_006370	1,26	NC	1,20	NC	NC	NC	1,25	NC	1,28 *	1,22 *
7896929	VWA1	NM_022834	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,27 *	1,22 *
8084382	VWASB2	NM_138345	NC	NC	1,27	NC	NC	-1,47 *	NC	NC	NC	1,22 *
8132805	VWC2	NM_198570	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	1,22 *
7948511	VWCE	NM_152718	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,36 *	1,22 *
8167334	WAS	NM_000377	NC	NC	-1,32	-1,30	NC	-1,28	-1,41	NC	-1,69 *	1,22 *
8042867	WBP1	NM_012477	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	-1,23	-1,27 *	1,22 *
8043377	WBP1	NM_012477	NC	NC	NC	-1,22	-1,25	-1,31 *	-1,22	-1,30	-1,35 *	1,22 *
8053599	WBP1	NM_012477	NC	NC	NC	-1,21	-1,24	-1,32 *	NC	-1,30	-1,33 *	1,22 *
8020842	WBP11P1//	NR_003558	NC	NC	1,24 *	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	1,22 *

## Anexo 2

7968746	WBP4	NM_007187	NC	NC	NC	1,21	NC	1,27	NC	NC	1,47	*	
8133258	WBSCR17	NM_022479	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	
8139917	WBSCR17	NM_022479	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	
8140144	WBSCR27	NM_152559	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8059361	WDFY1	NM_020830	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	1,29	*	
7969204	WDFY2	NM_052950	NC	NC	1,25	NC	NC	1,27	1,24	1,24	1,36	*	
8094638	WDR19	NM_025132	1,20	NC	NC	NC	NC	1,31	1,32	NC	1,40	*	
7904364	WDR3	NM_006784	NC	NC	NC	1,21	NC	1,37	*	1,22	NC	1,42	*
8163491	WDR31	NM_001012361	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8107282	WDR36	NM_139281	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,40	*	
7925851	WDR37	NM_014023	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	
8157818	WDR38	NM_001045476	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,36	*	
8174972	WDR40B	NM_178470	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
7918275	WDR47	NM_001142550	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	1,27	NC	1,32	*	
8078834	WDR48	NM_020839	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	
8089596	WDR52	ENST00000393845	NC	NC	1,51	1,39	NC	NC	1,45	NC	1,54	*	
8089606	WDR52	NM_0018338	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*	
8108593	WDR55	NM_017706	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	NC	NC	1,38	*
8002802	WDR59	NM_030581	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	1,27	NC	NC	
8137639	WDR60	NM_018051	NC	NC	NC	1,28	1,20	1,38	*	1,36	NC	1,33	*
8028119	WDR62	NM_001083961	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	
7900639	WDR65	NM_152498	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	
8148158	WDR67	NM_145647	NC	NC	-1,34	1,32	NC	1,42	*	NC	NC	NC	
7991126	WDR73	NM_032856	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,40	*	1,26	NC	NC	
8046975	WDR75	NM_032168	NC	NC	NC	1,23	NC	1,27	*	1,38	NC	1,47	*
7918517	WDR77	NM_024102	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	
8087874	WDR82	NM_025222	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	
8143941	WDR86	NM_198285	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	-1,25	*
8036451	WDR87	NM_031951	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,23	*
7942791	WDR88	AK131444	-1,21	NC	-1,20	1,23	NC	1,33	*	NC	NC	NC	
8151234	WDR88	AK131444	NC	NC	-1,24	1,22	NC	1,32	*	NC	NC	NC	
8148198	WDYHV1	NM_018024	NC	NC	NC	NC	NC	1,38	*	NC	NC	1,25	
8066489	WFDC12	NM_080869	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8063014	WFDC13	NM_172005	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,21	
8150287	WHSC1L1	NM_023034	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	
8098942	WHSC2	NM_005663	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	
8132036	WIPF3	NM_001080529	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,29	*
8062864	WISP2	NM_003881	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8035040	WIZ	NM_021241	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	
8156415	WNK2	NM_006648	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,33	*
7955170	WNT1	NM_005430	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	
8048452	WNT10A	NM_025216	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	-1,25	*
8088180	WNT5A	NM_003392	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
7953012	WNT5B	NM_032642	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,23	*
7929822	WNT8B	NM_003393	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
8007895	WNT9B	NM_003396	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,28	*	
8145702	WRN	NM_000553	1,21	NC	NC	NC	NC	1,44	*	1,30	NC	1,35	
8005765	WSB1	NM_015626	NC	-1,28	NC	1,27	1,27	1,42	*	1,33	NC	1,23	
8004152	WSCD1	NM_015253	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	-1,22	NC	-1,23	*
7947363	WT1	NM_024424	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8098470	WWC2	NM_024949	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,41	*	
8167693	XAGE2	NM_130777	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8172749	XAGE2	NM_130777	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8169742	XIAP	NM_001167	NC	NC	NC	1,23	NC	1,31	*	NC	NC	1,38	*
8086341	XIRP1	NM_194293	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,23	*
8162696	XPA	NR_027302	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	
8085486	XPC	NM_004628	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,25	*	
8073311	XPNEP3	NM_022098	NC	NC	NC	NC	NC	1,31	*	NC	NC	1,29	*
7970473	XPO4	NM_022459	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*	NC	NC	NC	
7981447	XRCC3	NM_001100119	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,24	*
8048146	XRCC5	NM_021141	NC	NC	NC	1,25	1,22	NC	*	NC	NC	1,23	*
8073457	XRCC6	NM_001469	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	1,25	*
7999754	XYLT1	NM_022166	NC	NC	1,27	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
7962358	YAF2	NM_005748	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	1,21	*
8036479	YIF1B	NM_033557	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8041273	YIPF4	NM_032312	NC	NC	1,30	NC	NC	NC	1,20	NC	1,41	*	
8114829	YIPF5	NM_001024947	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	
8027213	YJEFN3	NM_198537	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	
7932678	YME1L1	NM_139312	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	
8000791	YPEL3	NM_031477	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8107375	YTHDC2	NM_022828	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	1,21	NC	1,34	*
8146637	YTHDF3	NM_152758	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	1,20	*	
8134915	ZAN	NM_003386	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,21	
8125201	ZBTB12	NM_181842	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	
8178683	ZBTB12	NM_181842	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	
8125731	ZBTB22	NM_005453	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	-1,27	*
8178988	ZBTB22	NM_005453	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	
8128767	ZBTB24	NM_014797	NC	NC	NC	NC	NC	1,23	*	NC	NC	NC	
7979611	ZBTB25	NM_006977	NC	NC	NC	1,23	NC	1,31	*	NC	NC	NC	
8157945	ZBTB34	NM_001099270	NC	NC	NC	NC	NC	1,23		1,27	1,25	1,25	*

7907486	ZBTB37	NM_032522	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	
7923119	ZBTB41	NM_194314	NC	1,20	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	*	
7971422	ZC3H13	NM_015070	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	1,30	NC	1,33	*	
8054664	ZC3H8	NM_032494	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	*	1,29	NC	1,30	*
7934690	ZCCHC24	NM_153367	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8162147	ZCCHC6	NM_024617	NC	NC	1,33	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,40	*	
7929634	ZDHHHC16	NM_198046	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	NC	NC	
7957277	ZDHHHC17	NM_015336	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	1,31	*
7899253	ZDHHHC18	NM_032283	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8093074	ZDHHHC19	NM_001039617	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8003180	ZDHHHC7	NM_001145548	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	*	NC	NC	1,27	*
8074892	ZDHHHC8P	NR_003950	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,24	NC	-1,20	-1,21	-1,29	*
8055624	ZEB2	NM_014795	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,24	*	
7985259	ZFAND6	NM_019006	-1,23	NC	-1,27	NC	NC	NC	1,33	*	NC	NC	NC	
7964937	ZFC3H1	NM_144982	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	NC	1,34	NC	1,33	*	
7978056	ZFHX2	BC144336	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC	
7987892	ZFP106	NM_022473	NC	NC	1,35	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	
8028652	ZFP36	NM_003407	NC	NC	-1,20	-1,43	NC	NC	-1,27	NC	-1,37	-1,21	-1,52	*
8116494	ZFP62	NM_152283	NC	NC	NC	1,32	NC	NC	1,42	*	1,41	NC	1,46	*
8036309	ZFP82	NM_133466	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,37	*	NC	NC	NC	
7996807	ZFP90	NM_133458	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	1,34	*	1,20	NC	NC	
7941127	ZFPL1	NM_006782	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*
7997767	ZFPM1	NM_153813	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*
8166500	ZFX	NM_003410	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,37	*
8176384	ZFY	NM_003411	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	
7979984	ZFYVE1	NM_021260	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	*
8085537	ZFYVE20	NM_022340	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	1,21	1,25	
8099008	ZFYVE28	NM_020972	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
7994615	ZG16	NM_152338	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
7969830	ZIC2	NM_007129	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8170200	ZIC3	NM_003413	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	*	NC	NC	NC	
7972567	ZIC5	NM_033132	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8134680	ZKSCAN1	NM_003439	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,35	*	NC	NC	1,20	
8124553	ZKSCAN4	NM_019110	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*	NC	NC	NC	
8092230	ZMAT3	NM_022470	NC	NC	-1,26	1,34	NC	NC	1,53	*	NC	NC	1,22	
8075276	ZMAT5	NM_019103	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	1,21	*	NC	NC	NC	
8033789	ZNF121	NM_001008727	NC	NC	NC	1,37	NC	NC	1,36	*	1,33	1,31	1,32	*
7925691	ZNF124	NM_003431	NC	NC	NC	NC	1,32	NC	1,38	*	NC	1,24	1,31	
8105136	ZNF131	NM_003432	NC	NC	NC	1,25	1,24	NC	1,30	NC	1,39	NC	1,43	*
8030954	ZNF137	NR_023311	NC	NC	NC	1,39	NC	NC	1,49	*	1,38	NC	1,30	
8035765	ZNF14	NM_021030	NC	NC	NC	1,39	NC	NC	1,55	*	NC	1,28	1,35	
7938331	ZNF143	NM_003442	NC	NC	1,32	NC	NC	NC	NC	1,21	NC	1,30	*	
8027685	ZNF181	NM_001029997	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,27	NC	1,34	NC	1,32	*
8172369	ZNF182	NM_006962	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*	1,20	NC	1,26	*
8117646	ZNF192	NM_006298	1,22	1,23	1,21	NC	NC	NC	NC	1,38	1,24	1,24	1,35	*
8124498	ZNF204	NR_002722	NC	NC	NC	1,48	1,37	NC	1,56	*	1,53	1,25	1,31	
8137112	ZNF212	NM_012256	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	NC	1,26	*
7927202	ZNF22	NM_006963	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	1,24	*
8029360	ZNF223	NM_013361	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,41	*	1,24	NC	1,35	*
8029377	ZNF224	NM_013398	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	1,53	*	1,40	NC	1,44	*
8029385	ZNF225	NM_013362	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	
8037444	ZNF235	NM_004234	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,35	*	1,32	NC	NC	
7933105	ZNF25	NM_145011	NC	NC	NC	1,20	1,23	NC	1,25	*	NC	NC	NC	
8153920	ZNF250	NM_021061	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,34	*	NC	NC	NC	
8153935	ZNF252	NR_023392	NC	NC	NC	1,31	NC	NC	1,46	*	1,31	NC	1,48	*
7951838	ZNF259	NM_003904	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*	NC	NC	NC	
7960134	ZNF26	NM_019591	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	NC	1,27	*	
7992870	ZNF263	NM_005741	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,25	*	1,21	1,28	1,22	*
8031690	ZNF264	NM_003417	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	
8135497	ZNF277	NM_021994	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	1,23	1,30	*	
8135512	ZNF277	AK027128	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,35	*
8005110	ZNF286A	NM_020652	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,32	*	1,25	NC	1,20	
8013305	ZNF286A	NM_020652	NC	-1,33	NC	1,29	NC	NC	1,36	*	1,23	NC	NC	
8013026	ZNF287	NM_020653	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	1,33	*	NC	NC	NC	
8037495	ZNF296	NM_145288	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*
8031726	ZNF304	NM_020657	NC	1,28	NC	1,31	NC	NC	1,36	*	NC	1,27	1,44	*
7933186	ZNF32	NM_006973	NC	NC	-1,31	1,22	1,24	NC	1,35	*	1,22	NC	NC	
8039006	ZNF320	NM_207333	NC	NC	NC	1,27	NC	NC	1,36	*	1,33	1,24	1,34	
8124459	ZNF322A	NM_024639	NC	NC	NC	1,31	NC	NC	1,36	NC	1,30	NC	1,41	*
8162669	ZNF322A	NM_024639	NC	NC	NC	1,34	NC	NC	1,35	*	1,30	1,20	1,34	*
7902891	ZNF326	NM_182976	NC	1,28	1,36	NC	NC	NC	NC	1,26	1,26	1,36	1,40	*
7933139	ZNF33B	NM_006955	NC	NC	NC	1,30	1,23	NC	1,32	*	1,25	NC	1,27	
8039054	ZNF347	NM_032584	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,39	*	NC	NC	1,26	
7899870	ZNF362	NM_152493	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,27	*
7927071	ZNF37A	NM_001007094	NC	NC	NC	1,21	NC	NC	1,30	*	1,27	NC	1,35	*
8057418	ZNF385B	NM_152520	NC	1,21	NC	NC	-1,21	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8141305	ZNF394	NM_032164	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,33	*	
8149986	ZNF395	NM_018660	NC	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,29	*
8020889	ZNF397	NM_001135178	NC	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,24	*
8172307	ZNF41	NM_007130	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	*	1,23	NC	1,24	*

## Anexo 2

7975645	ZNF410	NM_021188	NC	NC	NC	1,25	1,22	1,44 *	1,20	1,22	1,23
8031750	ZNF419	NM_001098491	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,35 *
8028219	ZNF420	NM_144689	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	NC	NC	NC
8033780	ZNF426	NM_024106	NC	NC	NC	NC	NC	1,38 *	1,30	NC	1,23
8027292	ZNF431	NM_133473	NC	NC	NC	1,31	1,29	1,39 *	1,35	1,38	1,30 *
8038942	ZNF432	NM_014650	NC	NC	NC	NC	NC	1,35 *	1,23	NC	1,34 *
8025964	ZNF439	NM_152262	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
8034349	ZNF44	NM_016264	NC	NC	NC	1,29	NC	1,30 *	1,41	NC	NC
8025958	ZNF440	NM_152357	NC	NC	-1,28	1,33	1,31	1,47 *	1,23	1,22	NC
8034379	ZNF442	NM_030824	NC	NC	-1,24	1,23	NC	1,25 *	1,24	NC	NC
8031617	ZNF444	NM_018337	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,27 *
8086482	ZNF445	NM_181489	NC	NC	-1,20	NC	NC	1,39 *	NC	NC	NC
8031962	ZNF446	NM_017908	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,29 *
8037433	ZNF45	NM_003425	1,24	NC	NC	NC	NC	1,38 *	1,35	1,22	1,26
8120382	ZNF451	NM_001031623	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24 *
8110478	ZNF454	NM_182594	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8036341	ZNF461	NM_153257	NC	1,24	NC	1,29	NC	NC	1,28	1,26	1,30 *
7997765	ZNF469	NM_001127464	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8139772	ZNF479	NM_033273	NC	NC	1,30 *	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8162449	ZNF484	NM_031486	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	1,29	NC	1,37 *
7927383	ZNF488	NM_153034	NC	NC	NC	NC	NC	-1,45 *	NC	NC	-1,23
8039759	ZNF497	NM_198458	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,29 *
7931561	ZNF511	NM_145806	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8031511	ZNF524	NM_153219	NC	NC	NC	-1,20	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,22 *
8037931	ZNF541	NM_001101419	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8031720	ZNF543	NM_213598	NC	NC	-1,33	NC	NC	1,63 *	NC	NC	1,22
8031762	ZNF549	NM_153263	NC	NC	NC	1,21	1,23	1,31 *	NC	1,24	1,25
8039655	ZNF550	NM_001039654	NC	NC	NC	1,30	NC	1,30 *	1,31	NC	1,32 *
8039687	ZNF552	NM_024762	NC	NC	-1,28	1,22	NC	1,40 *	NC	NC	NC
8025132	ZNF557	NM_024341	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,29	NC	1,28 *
8033667	ZNF558	NM_144693	NC	NC	NC	NC	NC	1,49 *	1,26	NC	1,47 *
8033801	ZNF562	NM_001130031	NC	NC	NC	1,22	NC	NC	1,28	NC	1,28 *
8029182	ZNF574	NM_022752	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8029301	ZNF575	NM_174945	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,24 *
8029311	ZNF576	NM_024327	NC	NC	-1,24	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *
8038904	ZNF577	NM_032679	NC	NC	NC	1,27	1,26	NC	1,34	NC	1,38 *
8039524	ZNF579	NM_152600	NC	-1,22	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,30 *
8031516	ZNF580	NM_016202	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,28
8036389	ZNF585B	NM_152279	NC	-1,29	-1,31	1,22	1,33	1,48 *	1,30	NC	NC
8031825	ZNF587	U71363	NC	1,27	NC	NC	NC	1,65 *	NC	1,30	1,38 *
8113761	ZNF608	NM_020747	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8038981	ZNF611	NM_030972	NC	NC	-1,32	NC	NC	1,39 *	1,30	NC	NC
8038925	ZNF615	NM_198480	1,27	NC	NC	NC	NC	1,64 *	1,42	1,27	1,54 *
8038954	ZNF616	NM_178523	NC	NC	NC	1,32	NC	1,58 *	1,39	NC	1,40
8111129	ZNF622	NM_033414	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	NC	1,30 *
8148658	ZNF623	NM_014789	NC	NC	NC	NC	NC	1,30 *	NC	NC	NC
8035779	ZNF626	NM_001076675	NC	NC	NC	1,22	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8031489	ZNF628	NM_033113	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8042601	ZNF638	NM_014497	NC	NC	NC	1,25	NC	1,27 *	NC	NC	1,32 *
7900446	ZNF642	NM_198494	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	1,22	NC	1,29 *
8038913	ZNF649	NM_023074	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,41 *
8134631	ZNF655	NM_138494	NC	NC	NC	1,23	NC	1,30 *	1,26	NC	1,25 *
8161319	ZNF658	NM_033160	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,22	NC	NC
8161326	ZNF658	NM_033160	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	1,21	NC	NC
8027268	ZNF66	BC067843	NC	NC	NC	NC	NC	1,31 *	1,25	NC	NC
7925672	ZNF670	NM_033213	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8039680	ZNF671	NM_024833	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	1,37 *
7910198	ZNF678	BC007286	NC	NC	NC	NC	NC	1,39 *	1,35	NC	1,50 *
7900461	ZNF684	NM_152373	NC	1,26	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	1,36 *
7919051	ZNF697	NM_001080470	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8033746	ZNF699	NM_198535	NC	NC	NC	1,21	NC	1,34 *	1,20	NC	1,31 *
8148941	ZNF7	NM_003416	NC	NC	NC	1,21	NC	1,26 *	NC	NC	NC
8151496	ZNF704	NM_001033723	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
8152111	ZNF706	NM_001042510	1,41	1,24	1,30	NC	NC	NC	NC	NC	1,44 *
7955721	ZNF740	NM_001004304	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	NC	1,29 *
8000903	ZNF747	NM_023931	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
8175319	ZNF75D	NM_007131	NC	NC	NC	1,29	NC	1,31 *	1,25	NC	1,26
8030993	ZNF761	NM_001008401	NC	NC	NC	1,24	NC	1,34 *	1,24	NC	1,34 *
8025978	ZNF763	NM_001012753	NC	NC	NC	NC	NC	1,32 *	1,29	NC	1,21
7982527	ZNF770	NM_014106	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC
7987361	ZNF770	NM_014106	NC	NC	NC	NC	NC	1,42 *	1,26	NC	1,34 *
7994817	ZNF771	NM_016643	-1,28	NC	1,21	1,22	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
8137228	ZNF775	NM_173680	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8031815	ZNF776	NM_173632	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	1,23	1,37 *
8036820	ZNF780A	NM_001142577	NC	NC	NC	NC	NC	1,49 *	1,24	NC	1,25
8036813	ZNF780B	NM_001005851	NC	-1,27	-1,23	1,31	1,20	1,59 *	1,30	NC	1,29
8158022	ZNF79	NM_007135	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	1,23 *
8026007	ZNF791	NM_153358	NC	1,23	NC	1,22	NC	NC	1,36	1,34	1,33 *
8167201	ZNF81	NM_007137	NC	NC	NC	NC	NC	1,26	1,29	NC	1,47 *
8030997	ZNF813	NM_001004301	NC	NC	NC	1,21	NC	1,39 *	NC	NC	1,41 *

8039017	ZNF816A	NM_001031665	NC	NC	NC	1,21	NC	1,30 *	1,21	NC	1,25
8038967	ZNF83	NM_001105549	NC	NC	NC	1,56	1,43	1,58 *	1,70	1,30	1,49 *
8039605	ZNF835	NM_001005850	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,23 *
8038949	ZNF841	NM_001136499	NC	NC	NC	1,29	NC	1,44 *	1,37	NC	1,44 *
8001046	ZNF843	NM_001136509	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	-1,24 *
8033809	ZNF846	NM_001077624	NC	NC	NC	1,31	1,23	1,41 *	1,42	NC	1,31
8027272	ZNF85	NM_003429	NC	NC	NC	1,20	NC	1,24 *	NC	NC	NC
8027247	ZNF93	NM_031218	NC	NC	-1,30	1,31	NC	1,33 *	1,28	NC	NC
8117822	ZNRD1	NM_170783	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
8179055	ZNRD1	NM_170783	NC	-1,24	NC	-1,46	NC	1,47 *	NC	NC	NC
8024934	ZNRF4	NM_181710	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
7925419	ZP4	NM_021186	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,27 *
8006958	ZPBP2	NM_199321	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8081407	ZPLD1	NM_175056	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8055377	ZRANB3	NM_032143	1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
7998921	ZSCAN10	NM_032805	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
8124574	ZSCAN12	NM_001145043	NC	1,26	NC	NC	NC	1,36 *	NC	NC	1,37 *
8129108	ZUFSP	NM_145062	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *	NC	1,23	1,22
7901479	ZYG11B	NM_024646	NC	NC	NC	NC	NC	1,25 *	NC	NC	NC
8136918	ZYX	NM_003461	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,33	NC	-1,33 *
7896746	---	NC_001807	NC	NC	-1,37	NC	NC	-1,49	NC	1,27	-2,04 *
7896983	---	AF161351	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,38 *
7897661	---	ENST00000386686	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,38 *
7898355	---	ENST00000386789	NC	NC	1,41	NC	NC	-1,45 *	NC	NC	NC
7898721	---	ENST00000410305	-1,27	-1,23	1,24	NC	NC	-1,65 *	-1,27	NC	-1,33
7899560	---	ENST00000383977	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,43 *	NC	NC	NC
7899882	---	DQ499598	NC	NC	1,33	-1,24	NC	-1,39 *	NC	NC	NC
7901314	---	AF111848	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7901744	---	ENST00000410236	NC	NC	1,34	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	NC
7901911	---	ENST00000388055	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7902493	---	ENST00000410917	NC	NC	1,50	NC	NC	-1,62 *	NC	NC	NC
7902700	---	ENST00000363064	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,50 *
7903889	---	ENST00000403548	NC	NC	NC	-1,23	-1,23	-1,35 *	-1,20	-1,25	-1,23
7904048	---	ENST00000386572	NC	NC	1,22	NC	1,29	1,33	1,33	1,43	1,62 *
7904252	---	ENST00000408113	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
7904431	---	ENST00000361860	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	-1,20 *
7904863	---	ENST00000386211	NC	1,25	1,24	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7904865	---	ENST00000386194	NC	NC	3,72	NC	NC	-4,01 *	-1,24	NC	NC
7904879	---	ENST00000364272	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	-1,21	-1,27	-1,27 *
7905145	---	ENST00000385925	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,30 *	-1,20	NC	NC
7905927	---	ENST00000365157	NC	NC	1,27	-1,22	-1,28	-1,47 *	NC	-1,22	NC
7906433	---	ENST00000385743	NC	NC	-1,28	-1,32	-1,28	NC	-1,21	-1,49	-1,33 *
7906753	---	ENST00000385720	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7906969	---	ENST00000384354	NC	1,23	1,21	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7907008	---	ENST00000384611	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,34 *
7907349	---	ENST00000411006	1,44	1,33	NC	NC	NC	1,43	1,29	1,50	1,65 *
7907368	---	ENST00000385621	-1,31	-1,34	NC	NC	NC	-1,52 *	-1,20	NC	-1,69 *
7907464	---	---	NC	NC	1,20	NC	-1,34	-1,40 *	NC	NC	NC
7907655	---	ENST00000364477	NC	NC	1,29	NC	NC	-1,48 *	NC	NC	NC
7907962	---	ENST00000385538	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7908328	---	ENST00000362941	-1,22	-1,23	NC	NC	1,23	-1,49 *	NC	NC	-1,29
7909780	---	ENST00000364623	1,24	NC	NC	-1,27	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,33
7909896	---	ENST00000385440	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,26 *
7910913	---	ENST00000400945	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
7910948	---	ENST00000362371	NC	NC	NC	-1,29	NC	-1,37	NC	-1,27	-1,51 *
7911110	---	ENST00000385325	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *
7911176	---	ENST00000365209	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	-1,39 *
7911211	---	ENST00000366486	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
7911331	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *
7911566	---	AK301440	NC	NC	NC	1,22	1,33	1,41 *	1,41	1,21	1,43
7911676	---	BC028413	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7912133	---	AK098599	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,24
7912155	---	ENST00000386636	-1,34	-1,39	-1,36	NC	NC	NC	-1,28	-1,28	-1,42 *
7912525	---	ENST00000364931	-4,16	-2,47	-3,46	NC	1,55	1,78	-3,95	-1,59	-1,94
7912627	---	ENST00000386355	NC	1,24	1,28	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7914350	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,29 *
7914992	---	ENST00000387309	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7915198	---	ENST00000384735	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	NC
7916741	---	ENST00000318251	-1,21	-1,27	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7917670	---	ENST00000410252	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
7917752	---	ENST00000391299	NC	NC	NC	NC	NC	-1,44 *	NC	NC	-1,25
7917902	---	ENST00000383952	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
7919131	---	BC034024	NC	NC	1,25	NC	1,37	NC	NC	1,54	1,48 *
7919267	---	AK125616	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	-1,23	NC	-1,23 *
7919347	---	AK125616	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	-1,23	NC	-1,23 *
7919382	---	ENST00000386140	NC	NC	NC	NC	-1,25	-1,28 *	NC	NC	NC
7919386	---	ENST00000386130	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	-1,26	NC	-1,42 *
7919564	---	ENST00000365297	NC	NC	NC	NC	NC	-1,52 *	NC	NC	-1,29
7919568	---	ENST00000386027	NC	NC	NC	NC	NC	-1,62 *	NC	NC	-1,36
7919582	---	ENST00000385961	-1,34	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	-1,42 *

## Anexo 2

7919761	---	ENST00000385919	NC	-1,49	-1,44	1,27	1,41	1,69 *	1,48	NC	NC
7919886	---	ENST00000363889	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *	NC	NC	NC
7920025	---	---	NC	-1,27	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,25
7920256	---	ENST00000410126	-1,20	NC	-1,36	NC	NC	-1,23	-1,25	-1,23	-1,67 *
7920337	---	AK094402	NC	NC	-1,51 *	NC	NC	NC	NC	NC	-1,60 *
7920795	---	ENST00000384405	NC	NC	NC	NC	NC	1,27	NC	NC	1,38 *
7922684	---	ENST00000410465	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7922910	---	ENST00000364726	NC	NC	1,33 *	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7923705	---	ENST00000385466	NC	NC	1,30	NC	NC	-1,46 *	NC	NC	NC
7924443	---	ENST00000411183	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
7924461	---	ENST00000363163	1,26	1,32	1,20	NC	-1,28	1,22	1,26	NC	1,47 *
7924463	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *
7924551	---	ENST00000390855	NC	NC	NC	NC	1,23	1,38	1,21	1,31	1,55 *
7925244	---	ENST00000385374	NC	1,24	1,35	NC	NC	-1,57 *	NC	NC	NC
7925434	---	ENST00000385353	NC	1,28	NC	-1,22	-1,23	-1,65 *	NC	NC	-1,48
7925440	---	---	NC	NC	-1,20	NC	-1,24	-1,24	NC	-1,41	-1,49 *
7925446	---	ENST00000385341	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,61 *	NC	NC	-1,32 *
7925523	---	ENST00000390855	NC	NC	NC	NC	1,23	1,38	1,21	1,31	1,55 *
7925739	---	ENST00000356294	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,35 *
7925976	---	ENST00000410301	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
7926659	---	ENST00000411199	NC	NC	1,25	NC	1,24	-1,43 *	NC	NC	NC
7926934	---	ENST00000383933	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
7927089	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *
7927153	---	ENST00000408541	1,21	NC	1,24	NC	NC	-1,28 *	1,23	NC	NC
7927167	---	ENST00000387120	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,27 *
7927548	---	---	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23
7927595	---	AF119912	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *
7927597	---	AF119852	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
7928060	---	ENST00000387490	1,22	1,25	NC	-1,27	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7928306	---	ENST00000363300	1,44	1,33	2,06	1,21	NC	-1,27	1,74	NC	1,62 *
7928870	---	ENST00000363306	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	-1,33 *
7930168	---	ENST00000388232	NC	NC	1,40 *	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
7930376	---	ENST00000363209	NC	-1,35	NC	-1,24	NC	-1,47 *	-1,45	-1,30	-1,36
7931079	---	ENST00000365375	NC	NC	1,70 *	NC	NC	-1,67 *	NC	NC	NC
7932086	---	ENST00000391197	-1,28	-1,28	NC	NC	NC	-1,47 *	NC	NC	-1,24
7932550	---	ENST00000386794	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7932612	---	ENST00000386809	NC	NC	1,24	NC	NC	NC	NC	1,23	1,21 *
7932860	---	ENST00000386288	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	NC	NC	-1,41 *
7933310	---	ENST00000319426	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,31 *
7936576	---	ENST00000388384	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,56 *	NC	NC	-1,29
7936994	---	ENST00000410808	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,37 *
7937198	---	BC047942	NC	NC	NC	NC	NC	-1,54 *	NC	-1,21	-1,45 *
7937936	---	AF359417	NC	NC	NC	NC	NC	-1,46 *	NC	NC	-1,26 *
7937971	---	ENST00000322493	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7937988	---	ENST00000406020	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7938258	---	ENST00000317359	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
7938420	---	ENST00000384131	NC	NC	1,33	-1,21	NC	-1,55 *	NC	NC	NC
7938561	---	ENST00000386734	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7938590	---	ENST00000391272	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
7940020	---	ENST00000411066	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7942379	---	ENST00000365652	NC	NC	-1,52	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,61 *
7942551	---	ENST00000410343	NC	NC	NC	NC	NC	1,50 *	NC	NC	1,35
7942809	---	BC008359	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
7942820	---	ENST00000387828	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,22
7942989	---	ENST00000383963	NC	NC	1,46 *	-1,23	-1,27	-1,43 *	NC	NC	NC
7943345	---	ENST00000411337	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,32 *	NC	NC	-1,20
7943954	---	ENST00000388431	NC	NC	1,75 *	NC	NC	-1,58 *	NC	NC	NC
7944162	---	ENST00000410993	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7944331	---	ENST00000384731	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7944516	---	AK127233	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7944718	---	ENST00000388639	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,44 *	NC	NC	-1,30 *
7944720	---	ENST00000388645	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,25 *
7944791	---	ENST00000363327	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	-1,23	NC	-1,39 *
7944970	---	ENST00000388707	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
7945347	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *
7945418	---	ENST00000410806	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,49 *	-1,26	NC	-1,49
7945972	---	ENST00000307648	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7946123	---	ENST00000316506	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
7947674	---	AK025353	NC	-1,23	-1,41	NC	1,20	1,45 *	NC	NC	NC
7948303	---	ENST00000319748	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	NC
7948306	---	ENST00000363947	NC	NC	1,28	NC	1,23	-1,24 *	NC	NC	NC
7948375	---	ENST00000355911	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
7949894	---	GENSCAN00000010381	NC	NC	-1,23	NC	NC	1,34 *	1,23	NC	NC
7949946	---	ENST00000387500	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
7950030	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7951108	---	AF364863	NC	1,21	1,28	NC	NC	NC	NC	NC	1,37 *
7951345	---	ENST00000388271	NC	NC	NC	NC	NC	-1,44 *	NC	NC	-1,25
7951349	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,51 *	NC	NC	-1,47 *
7951670	---	ENST00000388407	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7952065	---	ENST00000313693	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *

7952766	---	ENST00000317045	-1,20	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	-1,20
7953128	---	ENST00000410561	1,23	NC	1,29	NC	NC	NC	NC	1,31	NC	1,45
7953763	---	---	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	NC
7953871	---	ENST00000391130	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC
7954008	---	ENST00000386735	NC	1,25	NC	NC	-1,23	-1,23	*	NC	NC	NC
7955419	---	ENST00000363313	1,61	1,36	1,56	NC	NC	NC	NC	1,44	1,38	1,82
7955979	---	ENST00000326513	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC
7957275	---	ENST00000411341	-1,28	-1,49	NC	NC	NC	-1,41	NC	-1,35	-1,44	-1,61
7957568	---	ENST00000411153	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC
7958011	---	ENST00000363063	1,37	1,52	1,74	*	-1,30	-1,28	NC	NC	1,28	1,36
7959012	---	ENST00000410526	NC	NC	1,35	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC
7959848	---	ENST00000386205	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,44	*	NC	NC	NC
7959880	---	ENST00000386193	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,24
7959925	---	ENST00000390949	NC	NC	1,35	NC	NC	-1,61	*	NC	NC	NC
7960355	---	ENST00000386308	-1,42	1,28	1,89	*	1,43	-1,27	-1,69	*	NC	NC
7961363	---	ENST00000384283	NC	1,31	1,41	*	NC	NC	NC	NC	1,33	1,21
7961652	---	ENST00000386855	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39
7961889	---	ENST00000411018	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,30
7961998	---	ENST00000364742	-1,21	-1,24	NC	NC	NC	-1,32	*	-1,31	-1,34	-1,25
7962083	---	ENST00000386936	NC	NC	1,29	-1,23	NC	-1,48	*	NC	NC	NC
7962238	---	ENST00000364754	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,29	NC	-1,36	NC	-1,47
7963137	---	ENST00000387378	1,48	1,48	2,09	-1,34	NC	NC	NC	NC	1,36	1,84
7963263	---	ENST00000364083	-1,22	NC	1,42	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,39
7966876	---	ENST00000364172	1,24	-1,21	NC	NC	NC	-1,30	*	-1,26	-1,30	-1,43
7967622	---	ENST00000362714	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,51	*	NC	-1,22	-1,26
7967705	---	ENST00000390949	NC	NC	1,35	NC	NC	-1,61	*	NC	NC	NC
7967792	---	ENST00000364599	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,39	*	-1,22	-1,30	-1,28
7969058	---	ENST00000362506	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28
7969358	---	ENST00000411144	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
7969364	---	ENST00000365608	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	-1,23
7969372	---	ENST00000362412	NC	NC	NC	NC	NC	-1,47	*	NC	NC	-1,26
7969611	---	ENST00000387499	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
7969770	---	ENST00000384568	NC	NC	NC	-1,29	NC	-1,30	*	NC	-1,22	-1,23
7970031	---	ENST00000364291	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23
7970392	---	GENSCAN00000042413	NC	NC	1,21	1,22	-1,31	-1,53	*	NC	NC	-1,27
7971122	---	ENST00000362406	-1,20	-1,24	NC	NC	NC	-1,49	*	NC	-1,27	-1,37
7971124	---	---	NC	NC	-1,62	*	NC	NC	NC	NC	-1,27	-1,41
7971243	---	ENST00000312625	1,20	NC	NC	-1,27	-1,22	-1,20	NC	NC	-1,22	-1,29
7971535	---	ENST00000386914	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	NC
7971899	---	ENST00000411171	NC	NC	1,32	*	NC	NC	-1,36	*	NC	NC
7972173	---	ENST00000411345	NC	NC	1,25	*	NC	NC	-1,27	*	NC	NC
7972223	---	ENST00000365528	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC
7972257	---	ENST00000391257	NC	NC	NC	-1,48	-1,38	-1,62	*	-1,33	-1,60	-1,66
7972289	---	ENST00000387510	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC
7972367	---	ENST00000387545	1,38	NC	-1,33	-1,38	NC	NC	NC	NC	-1,24	-1,55
7972442	---	ENST00000387618	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	NC
7972733	---	ENST00000328558	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC
7972977	---	AF354444	NC	NC	NC	NC	NC	-1,46	*	-1,23	NC	-1,48
7973020	---	ENST00000357151	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,21	*	NC	NC	-1,22
7973054	---	ENST00000363355	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	NC	-1,34	NC	-1,52
7973444	---	ENST00000410999	NC	NC	1,21	-1,38	-1,26	-1,46	*	-1,22	-1,22	-1,21
7973867	---	ENST00000386811	NC	-1,77	-3,74	*	NC	NC	2,33	*	-1,23	-1,56
7973966	---	BX161496	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	NC
7973972	---	BC008699	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,23	*	NC	NC	NC
7974194	---	ENST00000386332	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC
7974255	---	ENST00000364619	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,75	*	NC	NC	-1,43
7975924	---	ENST00000411242	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,35
7976156	---	ENST00000363442	NC	NC	1,33	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC
7976158	---	GENSCAN00000037252	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC	-1,33
7977201	---	ENST00000388557	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,30	*	NC	NC	NC
7977773	---	ENST00000303519	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,29
7979398	---	ENST00000387082	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC
7979572	---	ENST00000363823	NC	NC	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27
7979806	---	ENST00000387319	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22
7979862	---	ENST00000384041	NC	1,53	2,15	*	-1,23	-1,32	-2,06	*	-1,21	NC
7979980	---	ENST00000384024	NC	NC	NC	-1,21	-1,21	-1,29	*	NC	NC	NC
7980003	---	ENST00000387477	NC	NC	1,49	*	NC	NC	-1,48	*	NC	NC
7981320	---	AK126659	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC
7981425	---	ENST00000362658	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,47	*	-1,25	NC	-1,36
7982348	---	AK090403	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23
7982935	---	---	NC	NC	-1,39	1,26	1,56	1,61	*	NC	1,32	NC
7983252	---	ENST00000410466	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	NC
7983614	---	ENST00000388067	NC	NC	1,35	NC	NC	-1,39	*	NC	NC	NC
7983761	---	ENST00000365453	1,39	1,25	1,35	NC	NC	NC	NC	1,33	NC	1,54
7983771	---	ENST00000384268	-1,26	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39
7984188	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24
7984261	---	ENST00000388553	NC	NC	1,37	*	NC	NC	-1,25	NC	NC	NC
7984567	---	ENST00000363346	-1,21	-1,33	NC	NC	NC	-1,42	*	-1,29	NC	-1,23
7985257	---	ENST00000318816	NC	1,23	-1,39	NC	-1,32	NC	NC	NC	NC	-1,58
7985442	---	ENST00000386569	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21

**Anexo 2**

7986501	---	ENST00000386118	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
7988623	---	ENST00000410609	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,30 *
7990652	---	ENST00000410898	NC	-1,21	NC	1,21	1,34	-1,60 *	NC	NC	-1,34
7990914	---	ENST00000386569	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
7990963	---	ENST00000386569	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *
7991540	---	ENST00000386141	-1,31	NC	NC	NC	NC	-1,52 *	NC	NC	-1,27
7991638	---	ENST00000386124	1,71	NC	NC	NC	1,23	1,84 *	1,74	1,44	1,57 *
7991828	---	GENSCAN00000018531	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
7992067	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,44 *	NC	NC	-1,29
7992140	---	GENSCAN00000025741	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	-1,29 *
7992197	---	GENSCAN00000025745	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	NC
7992269	---	ENST00000301714	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
7992843	---	ENST00000363334	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *
7992893	---	ENST00000386778	-1,99	-1,58	-2,53 *	1,32	1,75	1,33	-1,51	NC	-1,91 *
7993017	---	ENST00000386796	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21	1,26 *
7993165	---	ENST00000386838	NC	NC	1,29	NC	-1,24	-1,97 *	NC	-1,35	-1,53 *
7993831	---	ENST00000387041	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
7995322	---	ENST00000387307	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	-1,21	NC	-1,36
7996239	---	ENST00000363686	NC	1,23	1,33	NC	NC	-1,47 *	NC	NC	NC
7997319	---	ENST00000388053	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
7997861	---	AK027082	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
7998115	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *
7998249	---	ENST00000364164	NC	NC	NC	NC	-1,27	-1,30 *	NC	NC	-1,21
7998965	---	ENST00000386791	NC	NC	1,30	NC	NC	-1,47 *	NC	NC	NC
7999433	---	ENST00000390926	NC	-1,27	NC	NC	NC	-1,42 *	-1,35	NC	-1,56 *
8001131	---	ENST00000362578	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8001183	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8001348	---	---	NC	-1,21	NC	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,30 *
8001798	---	ENST00000364419	NC	1,20	1,25	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
8002245	---	ENST00000387799	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8002262	---	ENST00000363109	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	-1,26 *
8002590	---	ENST00000384740	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8002967	---	AF116601	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *
8003075	---	ENST00000388129	NC	NC	1,43 *	-1,31	-1,22	-1,60 *	NC	NC	NC
8003771	---	ENST00000410853	NC	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	1,29 *
8003800	---	ENST00000270133	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,21	-1,32 *
8003810	---	ENST00000322899	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,23
8003857	---	---	NC	NC	-1,36	-1,66	-1,40	-1,40	-1,40	-1,28	-1,90 *
8004219	---	ENST00000410233	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	-1,29 *
8005433	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	-1,29
8005632	---	ENST00000387088	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,30
8005751	---	ENST00000387233	NC	NC	1,31	NC	-1,22	-1,26 *	NC	NC	NC
8005753	---	ENST00000387249	NC	-1,33	-1,24	NC	NC	-2,57	NC	NC	-3,18 *
8006181	---	ENST00000410879	NC	1,22	1,31	NC	NC	-1,44 *	NC	NC	NC
8006317	---	ENST00000387536	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	-1,21
8006590	---	ENST00000387664	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,21
8006679	---	ENST00000411344	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	-1,23 *
8007259	---	ENST00000225928	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,34 *
8007917	---	ENST00000410921	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,40 *
8008704	---	ENST00000411044	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *
8008782	---	ENST00000388226	NC	NC	1,28	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8009299	---	ENST00000388437	NC	NC	NC	-1,21	-1,29	-1,66 *	NC	-1,33	-1,53 *
8009524	---	ENST00000388529	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8012218	---	ENST00000364619	-1,42	NC	-1,30	NC	1,28	-1,75	-1,38	NC	-2,28 *
8012518	---	ENST00000411161	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8013259	---	ENST00000300983	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	-1,21
8014452	---	ENST00000387703	NC	NC	-1,28	NC	NC	NC	NC	-1,24	-1,38 *
8014485	---	ENST00000358618	-1,29	-1,30	-1,24	NC	1,21	NC	-1,23	NC	-1,47 *
8016519	---	ENST00000364033	-1,66	-1,35	-1,33	NC	1,38	NC	-1,51	NC	-1,57 *
8017100	---	ENST00000362556	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC
8017391	---	ENST00000363690	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8017827	---	ENST00000364677	NC	1,24	1,35	NC	-1,24	-1,27 *	NC	NC	NC
8018935	---	ENST00000386500	1,22	NC	NC	NC	NC	1,24	1,27	1,31	1,45 *
8019937	---	GENSCAN00000023440	NC	-1,27	NC	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,28 *
8020449	---	ENST00000386322	NC	NC	1,35 *	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8020491	---	ENST00000387045	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,21 *
8020549	---	ENST00000387062	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,28 *
8021363	---	ENST00000387596	NC	NC	NC	NC	NC	-1,55 *	NC	-1,21	-1,32
8022610	---	ENST00000404684	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8022870	---	ENST00000362334	NC	NC	2,37	-1,35	-1,65	-3,68 *	-1,35	-1,56	-1,56
8022970	---	ENST00000410772	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,33 *	NC	-1,20	-1,29 *
8023216	---	ENST00000384217	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC	NC	NC	1,26 *
8023308	---	ENST00000364798	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8023380	---	ENST00000384425	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8023462	---	ENST00000384138	NC	-1,35	NC	1,52	NC	-1,52	NC	NC	-1,49 *
8025990	---	ENST00000386378	NC	NC	NC	NC	NC	1,22 *	NC	NC	NC
8026292	---	ENST00000344943	-1,34	NC	NC	1,53	1,43	1,42 *	NC	1,37	1,28
8027381	---	ENST00000387093	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,34 *	NC	-1,26	-1,49 *
8027437	---	---	-1,46	-1,57	NC	1,24	NC	-1,64 *	NC	-1,55	-1,54
8028117	---	ENST00000363186	NC	1,40	1,23	-1,21	-1,39	-1,45 *	NC	NC	NC



8028283	---	ENST00000333201	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8028323	---	ENST00000363339	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	-1,33	*
8029615	---	ENST00000384276	1,47	NC	1,47	NC	1,36	NC	NC	1,66	1,59	1,76	*
8030391	---	ENST00000384345	NC	-1,57	-1,24	NC	1,30	-1,27	NC	-1,25	-1,20	-1,58	*
8030731	---	BC066878	NC	1,26	1,59	-1,31	NC	-1,70	*	NC	NC	NC	
8031997	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	NC	1,30	1,29	1,63	*
8034326	---	ENST00000391195	NC	NC	NC	NC	NC	1,20	*	NC	NC	NC	
8035144	---	ENST00000410636	NC	NC	-1,22	NC	NC	1,49	*	NC	NC	1,23	
8035175	---	ENST00000411201	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	NC	
8035801	---	ENST00000364165	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,40	*
8035903	---	ENST00000363868	-1,21	NC	1,42	NC	NC	-1,45	*	NC	NC	NC	
8037535	---	ENST00000321418	NC	NC	NC	NC	1,26	NC	NC	NC	NC	-1,28	*
8039090	---	ENST00000387700	-1,35	NC	-1,25	NC	NC	-1,28	NC	-1,21	NC	-1,60	*
8039945	---	AK301440	NC	NC	NC	1,22	1,33	1,41	*	1,41	1,21	1,43	
8040034	---	ENST00000387803	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
8040514	---	ENST00000388151	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	NC	NC	1,20	1,31	*
8041420	---	ENST00000388385	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	-1,21	
8041957	---	ENST00000365325	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*
8042062	---	ENST00000384237	NC	NC	1,31	NC	NC	-1,42	*	NC	-1,23	NC	
8042109	---	ENST00000363231	NC	NC	1,70	*	NC	-1,63	*	NC	NC	NC	
8042501	---	ENST00000386221	1,27	NC	NC	NC	NC	1,46	*	1,35	NC	1,36	*
8042958	---	ENST00000408711	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*	NC	NC	NC	
8043743	---	ENST00000361263	NC	NC	-1,66	*	NC	NC	NC	NC	NC	-1,57	*
8043745	---	AF119842	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,25	*
8044741	---	ENST00000385842	NC	1,26	1,28	NC	-1,36	-1,55	*	NC	NC	-1,22	
8045279	---	ENST00000385625	NC	NC	-1,33	NC	-1,31	-1,24	NC	NC	NC	-1,66	*
8045972	---	ENST00000385481	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8046199	---	ENST00000384234	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC	
8046426	---	ENST00000385465	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
8046755	---	ENST00000410486	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,57	*	NC	NC	-1,24	
8046788	---	ENST00000391102	NC	NC	1,37	*	NC	-1,29	*	NC	NC	NC	
8047503	---	ENST00000385405	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34	*	NC	NC	-1,27	
8047736	---	ENST00000385387	NC	NC	NC	NC	NC	-1,61	*	NC	NC	-1,35	
8048075	---	ENST00000362715	NC	1,24	NC	NC	NC	-1,45	*	NC	1,26	-1,23	
8048108	---	---	NC	NC	NC	-1,31	-1,24	-1,28	NC	-1,38	-1,44	-1,38	*
8048116	---	ENST00000384544	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	-1,35	*
8048712	---	BC033986	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8048976	---	ENST00000410320	1,30	NC	1,26	1,25	1,36	1,27	NC	1,63	NC	1,60	*
8049195	---	ENST00000385312	NC	-1,25	NC	NC	NC	-1,42	*	-1,21	NC	-1,36	*
8050253	---	ENST00000383906	NC	NC	NC	NC	NC	-1,48	*	NC	NC	-1,35	
8050656	---	ENST00000384155	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,41	*	NC	NC	NC	
8050801	---	ENST00000365609	1,25	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,36	NC	1,30	*
8052089	---	ENST00000391278	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*	NC	NC	NC	
8052620	---	ENST00000386543	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8052696	---	ENST00000410198	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC	
8052932	---	ENST00000386208	-1,31	-1,24	NC	NC	NC	-1,37	*	-1,25	NC	-1,37	*
8053480	---	ENST00000362817	NC	1,25	NC	NC	NC	-1,38	*	NC	NC	-1,20	
8053560	---	ENST00000365667	NC	NC	1,45	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,28	*
8053666	---	ENST00000384620	NC	NC	NC	-1,29	NC	-1,48	*	-1,27	NC	-1,35	*
8053710	---	ENST00000357453	NC	-1,46	NC	-1,26	NC	-1,29	NC	-1,27	-1,61	-1,47	*
8053797	---	ENST00000357042	-1,35	-1,50	-1,29	1,75	1,80	1,88	*	1,30	1,20	1,46	
8054037	---	ENST00000385947	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	*
8055135	---	ENST00000385698	1,45	NC	NC	-1,75	-1,63	-1,68	*	-1,21	-1,44	-1,42	
8055247	---	ENST00000391135	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	-1,22	*
8055265	---	ENST00000385636	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC	
8055474	---	ENST00000391123	NC	NC	1,24	-1,22	-1,29	-1,62	*	NC	NC	-1,30	
8055486	---	ENST00000385549	-1,44	NC	-1,43	NC	NC	-1,51	NC	-1,39	NC	-2,16	*
8055596	---	ENST00000385525	-1,41	NC	1,82	*	NC	-1,36	NC	-1,25	NC	1,34	
8055965	---	ENST00000385492	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	
8056215	---	AK093576	-1,32	-1,25	-1,52	NC	1,38	1,43	*	NC	NC	NC	
8057561	---	---	NC	-1,37	-1,78	*	NC	1,25	1,43	NC	NC	-1,24	
8058516	---	ENST00000385377	-1,25	NC	NC	NC	NC	-1,67	*	-1,27	NC	-1,43	*
8058662	---	ENST00000385365	NC	NC	-1,21	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20	*
8058693	---	ENST00000385352	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43	*	NC	NC	-1,23	
8058971	---	ENST00000384663	NC	NC	1,38	*	NC	-1,34	*	NC	NC	NC	
8059275	---	ENST00000410746	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	NC	
8059277	---	ENST00000385336	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	NC	
8059339	---	ENST00000385332	NC	NC	NC	NC	1,20	-1,53	*	NC	NC	-1,41	
8059900	---	ENST00000365471	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8061507	---	ENST00000387328	NC	NC	1,29	NC	NC	-1,54	*	NC	NC	NC	
8061666	---	ENST00000391269	-1,23	NC	1,70	*	NC	-1,69	*	NC	NC	NC	
8061881	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,28	*
8061912	---	ENST00000246222	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	-1,27	*
8062204	---	ENST00000410528	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23	*	NC	-1,21	NC	
8063549	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*
8064188	---	AK000832	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,39	*
8064462	---	ENST00000386842	1,33	NC	1,37	NC	1,39	NC	NC	1,56	1,54	1,63	*
8065069	---	ENST00000386988	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,27	-1,38	*
8065244	---	ENST00000278779	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC	
8065252	---	BC004382	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	

**Anexo 2**

8065323	---	ENST00000362639	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	NC
8065330	---	ENST00000411196	NC	-1,28	1,24	NC	NC	-1,51 *	NC	-1,36	-1,22
8065332	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	-1,24	-1,27
8065756	---	ENST00000313883	NC	NC	-1,29	NC	NC	1,39 *	NC	NC	NC
8066391	---	ENST00000384074	NC	1,36	1,41	1,20	-1,27	-1,77 *	NC	NC	-1,26
8066960	---	ENST00000362620	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	NC
8067155	---	ENST00000388080	NC	NC	1,23	-1,29	-1,29	-1,59 *	NC	-1,29	-1,29
8067165	---	ENST00000410186	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	NC
8067551	---	GENSCAN00000021200	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,28
8067983	---	ENST00000387011	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8068510	---	ENST00000362936	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *
8068731	---	ENST00000384772	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,24 *
8069446	---	ENST00000387356	NC	NC	NC	NC	NC	1,53 *	NC	NC	1,37
8069764	---	ENST00000365114	NC	NC	NC	-1,33	NC	-1,31	-1,32	-1,28	-1,46 *
8070714	---	ENST00000387316	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8070871	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8070925	---	BC040996	-1,29	-1,25	NC	NC	1,25	NC	NC	NC	-1,23 *
8070930	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	-1,40 *
8071371	---	ENST00000390951	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8071543	---	ENST00000390951	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8071804	---	GENSCAN0000011504	NC	-1,32	NC	NC	NC	-1,36	NC	NC	-1,46 *
8071817	---	ENST00000386604	NC	NC	NC	NC	NC	-1,38	NC	NC	-1,56 *
8072272	---	ENST00000364106	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,30 *
8072924	---	ENST00000386727	NC	NC	1,28	*	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8073511	---	ENST00000384086	NC	1,24	1,57	NC	NC	-1,59 *	NC	1,21	NC
8074642	---	ENST00000386594	1,29	NC	1,33	NC	NC	NC	NC	1,24	1,28 *
8074746	---	ENST00000390951	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8075481	---	ENST00000365149	NC	-1,83	-1,70	NC	1,24	-1,37	-1,28	-1,47	-2,33 *
8075633	---	ENST00000386682	NC	NC	1,26	-1,30	-1,39	-1,78 *	-1,22	-1,32	-1,41 *
8075693	---	ENST00000386690	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	NC	1,25	1,30 *
8075705	---	ENST00000386698	NC	NC	NC	NC	NC	-1,51 *	NC	NC	-1,28
8075776	---	---	1,26	NC	1,41	NC	NC	-1,51 *	NC	NC	NC
8076298	---	ENST00000386767	NC	NC	-1,23	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *
8076509	---	ENST00000363578	NC	NC	1,27	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
8076732	---	ENST00000386852	NC	1,23	1,25	NC	NC	-1,36 *	NC	1,24	NC
8077351	---	---	NC	-1,27	-1,25	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *
8078136	---	ENST00000364292	NC	NC	1,28	NC	NC	-1,54 *	NC	NC	-1,21
8078284	---	ENST00000364843	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,32 *	NC	NC	-1,30 *
8078378	---	GENSCAN00000004304	-1,26	NC	1,25	NC	NC	-1,27 *	-1,21	NC	NC
8079964	---	AY555145	NC	NC	-1,32	*	NC	NC	-1,24	NC	-1,38 *
8081335	---	GENSCAN000000045322	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,23	NC	NC	-1,41 *
8081405	---	ENST00000365307	NC	NC	NC	-1,21	-1,21	-1,23 *	NC	NC	NC
8081501	---	ENST00000365509	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8081820	---	ENST00000384162	NC	1,29	1,61	*	ENST00000384162	-1,23	-1,51 *	NC	NC
8081995	---	ENST00000386487	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8082163	---	ENST00000384275	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,37 *	-1,32	-1,26	-1,55 *
8082246	---	ENST00000316429	NC	NC	NC	NC	NC	-1,49 *	NC	NC	-1,28 *
8084012	---	ENST00000385725	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	-1,24
8084878	---	ENST00000384640	1,37	1,31	1,86	NC	1,59	NC	1,37	2,09	2,22 *
8085120	---	ENST00000386994	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8086315	---	ENST00000387597	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC
8088140	---	ENST00000384381	NC	NC	NC	NC	NC	1,28 *	NC	NC	NC
8088369	---	ENST00000356893	NC	NC	NC	-1,20	NC	NC	-1,20	-1,28	-1,41 *
8088636	---	AY358705	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	NC	NC	-1,25 *
8088891	---	ENST00000331736	NC	-1,23	NC	NC	NC	-1,32 *	-1,22	NC	-1,25
8088956	---	ENST00000388371	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27	NC	NC	-1,25 *
8088977	---	ENST00000411209	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8089926	---	ENST00000410333	1,46	1,38	1,49	NC	NC	NC	1,43	1,37	1,47 *
8090936	---	ENST00000364455	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	-1,24
8091861	---	ENST00000363182	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8092065	---	ENST00000410479	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	-1,21	NC	NC
8092763	---	ENST00000363314	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC
8094776	---	ENST00000384469	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	NC	NC	NC
8095214	---	ENST00000363871	NC	NC	-1,25	-1,26	NC	NC	NC	NC	-1,36 *
8095626	---	ENST00000388104	NC	NC	NC	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	-1,33 *
8096002	---	ENST00000388219	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,30
8096457	---	ENST00000388444	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	NC
8096615	---	ENST00000362659	NC	NC	1,22	NC	1,21	NC	NC	1,31	1,38 *
8096777	---	ENST00000383874	NC	NC	1,22	1,28	1,25	1,27	1,41	1,35	1,55 *
8097062	---	ENST00000411293	NC	NC	NC	1,32	1,24	1,41 *	1,20	1,31	1,51 *
8097118	---	AK097701	NC	NC	-1,30	NC	-1,21	NC	NC	-1,21	-1,49 *
8097305	---	ENST00000364427	NC	1,25	1,32	NC	-1,24	-1,33 *	NC	NC	NC
8097947	---	ENST00000385996	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36 *	NC	NC	NC
8098261	---	ENST00000384442	NC	NC	-1,22	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *
8098421	---	ENST00000410927	NC	-1,24	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	-1,34	-1,30 *
8098498	---	ENST00000405900	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8098506	---	ENST00000302336	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8098721	---	ENST00000362702	-1,22	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,42 *
8098938	---	ENST00000410203	NC	1,22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8099082	---	GENSCAN00000035461	NC	-1,32	-1,28	-1,32	NC	NC	NC	-1,41	-1,52 *

8099091	---	ENST00000342858	NC	NC	NC	-1,29	-1,20	-1,28	NC	-1,20	-1,53 *
8092523	---	ENST00000363997	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,32 *
8100001	---	ENST00000384466	NC	NC	1,22	NC	-1,24	-1,30 *	NC	-1,24	NC
8100177	---	ENST00000387642	NC	NC	1,31	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8100338	---	AY189288	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8100964	---	ENST00000386474	NC	NC	NC	-1,26	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
8101699	---	AK092450	NC	NC	-1,55	1,42	1,24	1,74 *	1,50	NC	NC
8101810	---	ENST00000363752	NC	NC	1,32	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
8102530	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *
8103372	---	ENST00000385965	NC	1,21	1,24	-1,25	-1,34	-1,52 *	NC	NC	-1,22
8103483	---	ENST00000385895	1,30	NC	NC	-1,51	-1,21	-1,42	NC	NC	-1,57 *
8103542	---	ENST00000383984	NC	NC	NC	-1,22	NC	-1,33 *	NC	NC	NC
8103743	---	ENST00000385785	NC	NC	1,20	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8104305	---	ENST00000364156	NC	NC	NC	NC	NC	-1,46 *	-1,24	NC	-1,28
8104319	---	ENST00000411075	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8104447	---	ENST00000410122	-1,25	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	-1,32	NC	-1,21
8104926	---	ENST00000364353	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,27 *
8105061	---	---	NC	-1,37	-2,42 *	1,29	1,70	1,81 *	1,22	1,24	-1,33
8106017	---	ENST00000388103	1,21	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8106189	---	ENST00000404799	-1,21	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,29	NC	-1,42 *
8106532	---	ENST00000384661	-1,31	NC	NC	NC	NC	-1,35	-1,25	NC	-1,54 *
8106720	---	ENST00000411030	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8106921	---	ENST00000388513	NC	NC	1,28	NC	-1,21	-1,32 *	NC	NC	NC
8107090	---	ENST00000388597	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,48 *	NC	NC	-1,21
8107096	---	ENST00000324151	NC	-1,27	-1,45 *	NC	1,25	1,27 *	NC	NC	NC
8107131	---	ENST00000411055	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8107373	---	ENST00000386575	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,23	NC	NC	-1,36 *
8107406	---	ENST00000410774	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,26 *
8107518	---	ENST00000384059	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,49 *
8107530	---	ENST00000365222	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	NC	NC	-1,23
8108040	---	GENSCAN00000002774	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8108422	---	ENST00000362675	1,25	NC	NC	NC	1,50	1,71 *	1,45	1,33	1,73 *
8108470	---	ENST00000384587	NC	NC	NC	-1,29	-1,24	NC	NC	-1,27	-1,29 *
8109303	---	ENST00000385889	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8109424	---	ENST00000411157	NC	NC	NC	NC	1,24	1,43 *	NC	1,24	1,65 *
8109526	---	ENST00000385808	1,40	NC	1,31	NC	1,42	1,42	1,42	1,45	1,86 *
8110104	---	ENST00000410179	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,47 *	NC	NC	NC
8111385	---	ENST00000387600	NC	NC	NC	NC	NC	-1,41 *	-1,24	NC	-1,20
8112433	---	ENST00000388077	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	NC
8112609	---	---	NC	NC	1,41 *	-1,24	NC	-1,44 *	NC	NC	NC
8112613	---	ENST00000388179	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,21
8112881	---	ENST00000388321	1,23	NC	1,28	-1,29	NC	1,26	NC	1,27	1,61 *
8113035	---	ENST00000384400	-1,31	-1,27	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *
8113344	---	ENST00000385895	1,30	NC	NC	-1,51	-1,21	-1,42	NC	NC	-1,57 *
8113367	---	ENST00000362916	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8113467	---	ENST00000314747	1,21	NC	NC	-1,34	NC	-1,29	NC	NC	-1,38 *
8113489	---	BX537598	NC	NC	1,28	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC
8113502	---	ENST00000386429	NC	NC	NC	NC	-1,20	-1,31 *	NC	NC	NC
8113660	---	GENSCAN00000039540	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
8113879	---	AK054976	NC	NC	NC	1,27	1,36	1,35 *	1,22	1,40	NC
8114207	---	ENST00000385895	1,30	NC	NC	-1,51	-1,21	-1,42	NC	NC	-1,57 *
8114211	---	ENST00000386114	NC	NC	-1,25	NC	NC	-1,24	NC	NC	-1,55 *
8114546	---	ENST00000384293	NC	NC	NC	-1,22	-1,22	-1,27	NC	-1,44	-1,45 *
8115164	---	ENST00000323881	NC	NC	1,43	NC	NC	NC	1,25	NC	1,52 *
8115166	---	ENST00000385894	NC	1,23	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8115541	---	ENST00000410694	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8115847	---	ENST00000364407	-1,37	NC	-1,28	1,22	1,36	-1,32	NC	1,21	-1,69 *
8116479	---	GENSCAN00000040822	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8117077	---	ENST00000384154	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8117118	---	ENST00000364653	NC	NC	1,43 *	NC	NC	-1,37 *	NC	NC	NC
8117561	---	ENST00000387706	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8117626	---	ENST00000343763	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29	NC	NC	-1,40 *
8117710	---	ENST00000410434	-1,31	NC	NC	1,21	NC	-1,26 *	NC	NC	NC
8117739	---	ENST00000405513	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,29 *
8118098	---	ENST00000364788	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC
8118216	---	ENST00000364337	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8119490	---	ENST00000384250	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8119580	---	ENST00000384121	1,53	NC	NC	NC	1,32	1,39	1,53	1,48	1,53 *
8119799	---	ENST00000362769	NC	NC	1,23	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
8120990	---	ENST00000388674	NC	NC	NC	-1,23	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8121134	---	ENST00000386410	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC	NC	NC	NC
8121273	---	ENST00000365516	NC	-1,41	NC	NC	NC	-1,70 *	NC	NC	-1,45 *
8121330	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8121670	---	ENST00000363378	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21 *	-1,21	NC	NC
8121947	---	ENST00000385937	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33 *	NC	NC	-1,20
8122196	---	ENST00000363188	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *
8122277	---	ENST00000403415	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8122701	---	ENST00000365473	NC	NC	1,22	NC	1,29	1,38	1,24	1,27	1,68 *
8122856	---	ENST00000385759	NC	NC	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	-1,26
8123642	---	ENST00000410316	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,32 *

**Anexo 2**

8123726	---	ENST00000387189	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8124038	---	ENST00000384464	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC
8124194	---	ENST00000387553	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8126301	---	ENST00000390874	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC
8127421	---	ENST00000388382	NC	NC	NC	-1,21	NC	NC	-1,25 *	-1,20	NC	-1,21
8127658	---	ENST00000364421	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	NC	NC	NC
8127686	---	ENST00000388552	1,21	NC	1,23	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8127696	---	AY371029	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC
8127999	---	ENST00000402104	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,23 *
8128892	---	ENST00000364056	NC	NC	1,23	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC
8129311	---	ENST00000362588	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC
8129375	---	ENST00000392469	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31 *	NC	NC	-1,28
8129943	---	ENST00000410832	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC
8130462	---	ENST00000385707	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
8131301	---	ENST00000365169	1,24	NC	NC	-1,20	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *
8131811	---	ENST00000387550	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	-1,24 *
8131917	---	ENST00000387583	NC	1,20	1,26	NC	NC	NC	-1,39 *	NC	NC	NC
8132690	---	ENST00000390855	NC	NC	NC	NC	1,23	1,38	1,21	1,31	1,55 *	
8132978	---	ENST00000339041	NC	-1,32	NC	NC	NC	-1,28	NC	-1,27	-1,44 *	
8132992	---	ENST00000388147	-1,41	-1,49	-1,47	NC	NC	-1,38	-1,62	-1,55	-2,03 *	
8132998	---	ENST00000388186	NC	1,33	-1,23	NC	NC	-1,44	NC	1,34	-1,78 *	
8133034	---	ENST00000388336	-1,26	NC	-1,54 *	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,32	
8133223	---	ENST00000388560	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	NC	NC	NC	
8133750	---	ENST00000363682	NC	1,25	1,25	NC	NC	1,26	1,26	1,45	1,57 *	
8133858	---	ENST00000363916	NC	NC	1,26	NC	NC	-1,46 *	NC	-1,24	NC	
8134024	---	ENST00000386547	NC	1,20	1,32 *	NC	NC	-1,38 *	NC	NC	NC	
8135015	---	ENST00000332750	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	-1,28 *	
8135160	---	ENST00000363682	NC	1,25	1,25	NC	NC	1,26	1,26	1,45	1,57 *	
8135271	---	ENST00000386026	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	-1,32 *	
8135929	---	ENST00000411257	NC	NC	NC	1,25	1,25	1,39	1,21	1,32	1,56 *	
8136289	---	ENST00000364139	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35 *	NC	NC	NC	
8136589	---	ENST00000385616	-1,32	-1,37	NC	NC	1,27	-1,53 *	-1,32	NC	-1,32	
8136652	---	ENST00000385606	-1,35	NC	-1,53 *	NC	NC	NC	-1,34	NC	-1,31	
8137433	---	ENST00000390917	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,23 *	
8137524	---	ENST00000364196	NC	NC	1,21	NC	-1,22	-1,41 *	NC	-1,34	NC	
8137668	---	ENST00000410382	NC	NC	NC	NC	NC	1,45	1,30	1,29	1,63 *	
8138084	---	---	1,86	1,65	1,53	NC	NC	NC	1,69	1,41	1,67 *	
8138862	---	ENST00000355837	NC	NC	1,36	1,25	1,27	NC	1,49	NC	1,55 *	
8138939	---	ENST00000387692	NC	1,20	1,32	NC	-1,25	-1,57 *	NC	NC	NC	
8139721	---	ENST00000388068	NC	-1,22	-1,56 *	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40 *	
8139778	---	ENST00000386352	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26 *	NC	NC	NC	
8139780	---	ENST00000388180	NC	1,25	1,87 *	NC	NC	-1,38	NC	1,22	1,35	
8139810	---	ENST00000388325	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,23 *	NC	NC	NC	
8139816	---	ENST00000388361	NC	NC	-1,23	-1,21	NC	-1,88	-1,21	NC	-2,30 *	
8139901	---	ENST00000363682	NC	1,25	1,25	NC	NC	1,26	1,26	1,45	1,57 *	
8139907	---	ENST00000388522	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	-1,43 *	
8140166	---	---	NC	NC	NC	NC	NC	-1,29 *	NC	NC	NC	
8140317	---	ENST00000364004	NC	1,25	1,24	NC	NC	NC	NC	1,29	1,42 *	
8140850	---	ENST00000384366	NC	NC	NC	1,31	NC	1,31 *	NC	1,26	1,29 *	
8141358	---	ENST00000339843	-1,23	NC	1,57 *	NC	1,21	-1,60 *	NC	NC	NC	
8141659	---	ENST00000386084	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28 *	NC	NC	NC	
8142017	---	ENST00000410454	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	
8142466	---	ENST00000410218	NC	NC	1,29	NC	NC	-1,65 *	NC	NC	-1,28	
8142979	---	ENST00000362757	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32 *	NC	NC	NC	
8143385	---	ENST00000365602	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	
8144683	---	ENST00000387478	NC	NC	1,21	-1,26	-1,23	-1,49 *	-1,31	NC	-1,23	
8144685	---	ENST00000387482	NC	NC	-1,23	-1,30	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	
8144703	---	ENST00000387486	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,43 *	-1,30	-1,31	-1,52 *	
8144810	---	ENST00000390978	NC	NC	NC	NC	-1,21	-1,26	NC	-1,25	-1,30 *	
8144993	---	ENST00000387624	NC	1,27	NC	NC	-1,26	-1,35 *	NC	NC	NC	
8145083	---	ENST00000314927	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	-1,27 *	
8145438	---	ENST00000362750	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24	-1,21	NC	-1,42 *	
8145795	---	---	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,45 *	-1,30	NC	NC	
8145818	---	ENST00000387896	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,25 *	NC	NC	NC	
8146559	---	ENST00000301647	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22 *	
8146837	---	ENST00000388526	-1,27	NC	NC	NC	-1,27	-1,52 *	-1,43	-1,36	-1,36	
8146857	---	ENST00000388545	1,21	NC	NC	NC	-1,27	-1,39 *	NC	NC	-1,30 *	
8146861	---	ENST00000388562	NC	NC	NC	-1,27	NC	-1,44 *	NC	NC	-1,21	
8146941	---	ENST00000391046	NC	NC	NC	NC	NC	-1,34 *	NC	NC	NC	
8146955	---	ENST00000384686	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,40 *	NC	NC	NC	
8147992	---	ENST00000383992	NC	NC	1,47 *	NC	NC	-1,43 *	NC	NC	NC	
8148327	---	ENST00000364912	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	-1,22 *	
8148329	---	ENST00000410823	NC	NC	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	NC	NC	
8148465	---	AF116633	NC	1,21	1,21	-1,22	-1,26	-1,33 *	NC	NC	NC	
8148474	---	ENST00000385723	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30 *	NC	NC	NC	
8148692	---	AK027383	NC	-1,21	NC	NC	NC	-1,24 *	NC	-1,24	-1,29 *	
8149146	---	ENST00000387243	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,61 *	-1,21	NC	-1,32	
8149200	---	AY371029	NC	NC	NC	NC	NC	-1,27 *	NC	NC	NC	
8150032	---	ENST00000387774	NC	NC	NC	NC	NC	-1,20 *	NC	NC	NC	
8150034	---	ENST00000363849	NC	NC	1,24	NC	-1,47	-1,56 *	NC	-1,30	-1,26	

8150101	---	ENST00000387790	-1,38	-1,27	-1,90	*	NC	NC	1,30	-1,23	NC	-1,46
8150864	---	ENST00000386318	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	NC	-1,24	NC	-1,45
8151090	---	ENST00000386343	NC	NC	-1,29		-1,21	-1,29	NC	NC	-1,27	-1,30
8151308	---	ENST00000411288	NC	NC	1,32		-1,29	NC	-1,72	*	-1,41	-1,43
8151367	---	ENST00000410556	NC	NC	NC		1,24	1,39	1,49	*	1,28	1,34
8152240	---	ENST00000364346	NC	NC	1,65	*	NC	NC	-1,51	*	NC	1,21
8152463	---	ENST00000362580	NC	-1,31	NC		NC	NC	NC	NC	NC	-1,30
8152664	---	ENST00000385873	1,58	NC	NC		NC	1,23	1,41		1,61	1,28
8152863	---	ENST00000363205	1,40	1,51	1,72		NC	-1,22	NC	NC	1,24	1,76
8154392	---	ENST00000365020	NC	NC	NC		NC	NC	-1,46	*	NC	-1,24
8155024	---	AK128829	NC	NC	1,21		NC	-1,23	-1,36	*	NC	NC
8155325	---	ENST00000388081	NC	NC	-1,22		NC	NC	NC	NC	NC	-1,28
8155877	---	ENST00000365347	NC	NC	NC		NC	NC	NC	NC	NC	-1,22
8156895	---	ENST00000410686	1,23	1,32	NC		NC	NC	1,31		1,34	1,24
8157036	---	ENST00000364713	NC	NC	NC		NC	NC	NC	NC	NC	-1,27
8157101	---	AK130032	-1,54	NC	NC		1,31	1,21	-1,64	*	NC	NC
8157123	---	ENST00000386261	NC	NC	1,23		NC	NC	-1,41	*	NC	NC
8157522	---	ENST00000410481	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*	NC	NC
8158684	---	ENST00000385827	NC	NC	1,26		-1,28	NC	-1,49	*	-1,24	NC
8158823	---	ENST00000385822	NC	NC	1,22		NC	NC	NC	NC	1,24	1,30
8159959	---	ENST00000343989	1,25	NC	NC		-1,25	NC	1,41	*	NC	NC
8160086	---	ENST00000387547	-1,20	NC	1,21		NC	NC	-1,29	*	NC	NC
8160470	---	ENST00000410761	NC	NC	NC		NC	NC	-1,24	*	NC	NC
8161171	---	ENST00000320491	NC	1,27	1,39		-1,27	-1,25	-1,44	*	NC	NC
8161371	---	ENST00000407306	NC	NC	1,27		NC	NC	-1,28	*	NC	NC
8161642	---	ENST00000388289	NC	NC	NC		NC	NC	-1,44	*	NC	-1,22
8161913	---	ENST00000388434	1,21	1,22	NC		NC	NC	-1,29	*	NC	-1,29
8161938	---	ENST00000384477	NC	NC	1,37	*	NC	NC	-1,22		NC	NC
8162082	---	AK125816	NC	NC	NC		NC	NC	-1,35	*	NC	-1,23
8162177	---	ENST00000410361	1,27	NC	NC		-1,27	-1,20	-1,46	*	NC	-1,35
8162249	---	AY358236	NC	NC	NC		NC	NC	NC	NC	-1,31	-1,23
8162568	---	ENST00000365068	NC	NC	1,48	*	NC	NC	-1,40	*	NC	NC
8162998	---	AK023447	NC	NC	1,21		NC	NC	-1,39	*	NC	NC
8163084	---	ENST00000364357	NC	NC	NC		-1,25	NC	-1,25	*	NC	NC
8163424	---	ENST00000386087	NC	1,38	1,33		NC	NC	NC	NC	1,22	1,47
8163731	---	ENST00000386007	-1,50	-1,27	NC		NC	1,27	-1,40		-1,31	NC
8165021	---	GENSCAN0000032223	NC	NC	NC		-1,34	-1,32	-1,42	*	NC	-1,24
8165656	---	NC_001807	NC	NC	-1,30		NC	NC	-1,44		NC	1,30
8165680	---	NC_001807	NC	NC	-1,25		NC	NC	-1,31		NC	-1,64
8165684	---	NC_001807	NC	-1,39	-1,31		-1,40	NC	-1,29		-1,34	-1,43
8166872	---	ENST00000362694	NC	-1,35	NC		-1,21	NC	-1,61	*	NC	-1,45
8167198	---	ENST00000338709	-1,37	-1,27	NC		NC	1,21	NC	NC	NC	-1,40
8167249	---	ENST00000388184	NC	NC	NC		NC	NC	-1,33	*	NC	NC
8167784	---	ENST00000362552	NC	NC	NC		NC	-1,21	-1,35	*	NC	NC
8168408	---	ENST00000373495	NC	NC	NC		NC	NC	NC	NC	NC	-1,25
8168733	---	ENST00000404461	NC	NC	NC		NC	-1,21	-1,23	*	NC	NC
8169231	---	ENST00000372451	NC	NC	NC		NC	NC	NC	NC	NC	-1,40
8170198	---	AK098726	NC	NC	NC		NC	NC	-1,40	*	NC	NC
8171203	---	ENST00000387483	NC	-1,26	NC		NC	NC	-1,49	*	NC	NC
8171295	---	ENST00000384117	NC	-1,23	NC		NC	NC	-1,39	*	-1,27	-1,34
8171336	---	ENST00000411014	NC	NC	NC		NC	NC	-1,52	*	-1,20	-1,23
8171535	---	ENST00000364597	NC	NC	NC		NC	NC	NC	NC	NC	-1,22
8171800	---	ENST00000387802	NC	NC	NC		NC	NC	-1,32	*	NC	NC
8172658	---	ENST00000365625	NC	NC	NC		-1,26	NC	-1,24		NC	-1,25
8172711	---	ENST00000388281	NC	NC	1,29		NC	NC	-1,31	*	NC	NC
8172717	---	ENST00000388284	NC	NC	NC		NC	NC	-1,21	*	NC	NC
8172776	---	ENST00000290559	NC	NC	1,38	*	NC	NC	-1,27	*	NC	1,23
8173156	---	ENST00000388375	NC	NC	-1,43		NC	1,51	-1,60		NC	1,33
8173164	---	---	NC	NC	-1,24		NC	-1,27	-1,30		NC	-1,45
8173428	---	ENST00000391303	NC	NC	NC		NC	NC	-1,31	*	NC	NC
8174977	---	ENST00000385981	-1,20	-1,24	NC		NC	NC	-1,24	*	NC	NC
8175267	---	ENST00000363050	NC	NC	1,25		NC	NC	-1,39	*	NC	NC
8175391	---	ENST00000362554	NC	NC	1,37		NC	-1,42	-1,89	*	NC	-1,41
8175438	---	ENST00000385803	NC	-1,21	NC		-1,31	NC	-1,51		-1,27	-1,28
8175570	---	ENST00000363008	NC	NC	NC		NC	NC	-1,22	*	NC	NC
8176679	---	ENST00000384104	NC	NC	NC		-1,24	NC	-1,26	*	NC	NC
8176949	---	ENST00000383864	NC	1,34	1,43		NC	NC	-1,38	*	NC	1,21
8177212	---	ENST00000384104	NC	NC	NC		-1,24	NC	-1,26	*	NC	NC
8180192	---	U13369.1	NC	NC	NC		NC	NC	1,27	*	NC	NC
8180197	---	NM_001632.2	NC	NC	NC		NC	NC	-1,27	*	NC	NC
8180209	---	NM_207453.1	NC	NC	NC		NC	NC	-1,26	*	NC	NC
8180219	---	NM_001004348.1	NC	NC	NC		NC	NC	-1,21		NC	-1,27
8180231	---	NM_014582.1	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*	NC	NC
8180236	---	NM_001039127.1	-1,30	-1,25	-1,48		1,54	1,44	1,76	*	NC	NC
8180237	---	NM_018396.1	NC	NC	NC		NC	1,25	1,33	*	1,23	NC
8180243	---	NM_001039778.1	NC	NC	NC		NC	NC	-1,22	*	NC	NC
8180265	---	NM_001039127.2	-1,30	-1,25	-1,48		1,54	1,44	1,76	*	NC	NC
8180289	---	NM_033487.1	NC	NC	NC		1,28	NC	1,27		1,39	NC
8180295	---	NM_033536.1	NC	NC	NC		1,27	NC	1,24		1,39	NC
8180296	---	NM_033537.1	NC	NC	NC		1,25	NC	1,23		1,38	NC

**Anexo 2**

8180300	---	NM_057179.1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8180301	---	NM_023011.2	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,29	NC	NC	1,28	*
8180302	---	NM_080687.1	NC	NC	NC	1,25	NC	NC	1,28	NC	NC	1,27	*
8180307	---	NM_145903.1	NC	NC	-1,34	-1,24	-1,28	-1,22	-1,49	NC	NC	-1,64	*
8180308	---	NM_145905.1	NC	NC	-1,32	-1,26	-1,30	-1,26	-1,50	-1,25	NC	-1,66	*
8180309	---	NM_152996.1	NC	1,23	NC	NC	NC	NC	NC	1,22	NC	1,35	*
8180341	---	NM_018890.2	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
8180342	---	NM_006908.3	NC	NC	1,24	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,29	*
8180343	---	NM_198829.1	NC	NC	1,25	*	NC	NC	NC	NC	NC	1,30	*
8180347	---	NM_203348.1	NC	NC	NC	NC	NC	-1,35	*	NC	NC	-1,24	*
8180349	---	NM_003290.1	NC	NC	NC	1,29	1,35	1,25	NC	1,22	NC	1,46	*
8180355	---	NM_213725.1	NC	NC	-1,28	NC	1,22	1,24	*	NC	NC	NC	
8180357	---	NM_003090.2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1,24	NC	NC	1,31	*
8180358	---	NM_014581.2	NC	NC	NC	NC	NC	-1,22	*	NC	NC	NC	
8180383	---	NM_001013664.1	NC	NC	NC	NC	NC	-1,33	*	NC	NC	-1,24	
8180384	---	NM_001014450.1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*
8180391	---	NM_001025161.1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*
8180401	---	NM_001031705.1	NC	NC	NC	NC	NC	-1,28	*	NC	NC	NC	
8180410	---	NM_003754.2	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	1,33	*	NC	NC	
8180415	---	NM_033412.2	NC	NC	NC	1,23	NC	1,34	*	NC	NC	1,26	
8180417	---	NM_018396.2	NC	NC	NC	NC	NC	1,30		1,21	NC	1,43	*

**Tabla Suplementaria 6.2.** Lista de microARN que cambiaron significativamente (\*) en el grupo GE-RES a los 6 y/o 12 meses pero que, en los grupos placebo y GE, no cambiaron significativamente o no cambiaron (NC) según el criterio de restricción para cambios <-1,2 y > 1,2.

MicroARN	Cambio en el número de veces de los niveles de expresión													
	Sonda ( <i>Affymetrix</i> )	Símbolo	Numero de acceso	6 meses vs. inicio			12 meses vs. 6 meses			12 meses vs. Inicio				
				Placebo	GE	RES-GE	Placebo	GE	RES-GE	Placebo	GE	RES-GE		
8024896	<i>hsa-mir-7-3</i>	MI0000265	NC	NC	NC	NC	NC	-1,40	*	NC	NC	-1,30	*	
7921012	<i>hsa-mir-9-1</i>	MI0000466	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,51	*	NC	NC	-1,24		
8008885	<i>hsa pri-mir-21</i>	AY699265	1,34	1,26	2,59	NC	1,44	NC		1,30	1,81	2,24	*	
8141419	<i>hsa-mir-25</i>	MI0000082	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,23	*	
8127498	<i>hsa-mir-30c-2</i>	MI0000254	NC	NC	1,23	NC	1,22	-1,40	*	NC	1,30	NC		
7912250	<i>hsa pri-mir-34a</i>	EF592573	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,26	*	
7943736	<i>hsa-mir-34b</i>	MI0000742	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	-1,27	NC		
8141421	<i>hsa-mir-93</i>	MI0000095	NC	NC	1,29	NC	-1,21	-1,33	*	NC	NC	NC		
8030842	<i>hsa-mir-99b</i>	MI0000746	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,39	*	
8175706	<i>hsa-mir-105-1</i>	MI0000111	NC	NC	NC	NC	NC	NC		NC	NC	-1,26	*	
8064029	<i>hsa-mir-124-3</i>	MI0000445	NC	1,24	1,22	NC	-1,23	-1,29	*	NC	NC	NC		
8135907	<i>hsa-mir-129-1</i>	MI0000252	NC	NC	NC	NC	NC	-1,25	*	NC	NC	NC		
7976844	<i>hsa-mir-134</i>	MI0000474	NC	NC	1,25	NC	NC	-1,37	*	NC	NC	NC		
7976806	<i>hsa-mir-136</i>	MI0000475	NC	NC	NC	NC	NC	-1,21	*	NC	NC	NC		
8049682	<i>hsa-mir-149</i>	MI0000478	NC	NC	NC	-1,21	NC	-1,29	*	NC	NC	-1,32	*	
8068022	<i>hsa mir-155HG</i>	NR001458	-1,36	NC	-1,75	*	1,37	NC	1,33	NC	1,25	-1,32	*	
7923173	<i>hsa-mir-181b-1</i>	MI0000270	1,53	1,62	2,71	*	NC	NC	-1,27		1,41	1,54	2,14	*
8071312	<i>hsa-mir-185</i>	MI0000482	NC	1,25	NC	NC	-1,23	-1,35	*	NC	NC	NC		
7916984	<i>hsa-mir-186</i>	MI0000483	1,32	-1,26	NC	NC	1,31	1,80	*	1,54	NC	1,91	*	
8022912	<i>hsa-mir-187</i>	MI0000274	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,20		
8167623	<i>hsa-mir-188</i>	MI0000484	NC	NC	1,22	NC	NC	-1,27	*	NC	NC	NC		
8016482	<i>hsa-mir-196a-1</i>	MI0000238	NC	NC	NC	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC		
7978019	<i>hsa-mir-208a</i>	MI0000251	NC	NC	1,21	NC	NC	-1,30	*	NC	NC	NC		
7945460	<i>hsa-mir-210</i>	MI0000286	NC	NC	NC	NC	NC	-1,36	*	NC	NC	-1,38	*	
7987097	<i>hsa-mir-211</i>	MI0000287	NC	NC	NC	NC	NC	-1,26	*	NC	NC	-1,31	*	
8011220	<i>hsa-mir-212</i>	MI0000288	NC	NC	NC	NC	NC	-1,31	*	NC	NC	-1,40	*	
7922326	<i>hsa-mir-214</i>	MI0000290	NC	NC	NC	NC	NC	-1,32	*	-1,21	NC	-1,21		
7976832	<i>hsa-mir-323</i>	MI0000807	NC	NC	1,24	NC	NC	-1,23	*	NC	NC	NC		
7957631	<i>hsa-mir-331</i>	MI0000812	NC	1,29	1,42	NC	NC	-1,46	*	NC	NC	NC		
8137707	<i>hsa-mir-339</i>	MI0000815	NC	NC	NC	NC	NC	-1,46	*	NC	NC	-1,39	*	
7976834	<i>hsa-mir-494</i>	MI0003134	NC	NC	NC	-1,25	NC	-1,24	*	NC	NC	-1,24	*	