V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

Kongresuko artikulu-bilduma

OSASUN ZIENTZIAK

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19
DONOSTIA, EUSKAL HERRIA

ueu

(c) 2023 Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)
Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Deustuko Unibertsitatea (UD), Nafarroako Unibertsitate Publikoa (NUP), Mondragon Unibertsitatea (MU), Nafarroako Unibertsitatea (UNAV), Paueko eta Aturrialdeko Unibertsitatea (UPPA), Urrutiko Hezkuntzarako Unibertsitate Nazionala (UNED), Eusko Jaurlaritza, Udalbiltza, Gipuzkoako Foru Aldundia eta Donostiako Udala laguntzaileak izan dira edizio honetan.
(c) Egileak

Editoreak:
Olatz Arbelaitz Gallego, Ainhoa Latatu Nuñez, Elixabete Perez-Gaztelu

Artikuluak *Creative Commons* Aitortu-PartekatuBerdin 3.0 lizentziapean daude

ISBNa: 978-84-8438-862-3 Lan osorako
ISBNa: 978-84-8438-866-1 4. liburukia
DOI: https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.2023.04

Harremanetarako: argitalpenak@ueu.eus
UEU. Erribera 14 1 D. 48005 Bilbo. Tel.: 94 679 05 46

OSASUN ZIENTZIAK

Aurkibidea

Hitzaurrea.....7

Batzordeak, laguntzaileak eta hizlariak.....9

Gailu elektroniko kardiakoak dituzten pazienteen esplantearen osteko kudeaketaren ezagutzak, lehentasunak eta berrerabilpenaren inguruko iritziak, *Iñigo Lorenzo Ruiz*.....11

Narriadura kognitibo larria duten adinekoen egoeraren azterketa, *Garazi Artola Balda* eta *Nekane Larburu Rubio*.....19

GRM2 eta GRM3 geneen adierazpenaren ebaluazioa subjektu eskizofrenikoen garun postmortemeko kortex aurrefrontalean, *Jon Ander Santas Martín, Alfredo Ramos Miguel, Luis Felipe Callado Hernando, Jose Javier Meana Martinez* eta *Guadalupe Rivero Calero*.....29

Generoaren araberako obesitatearen estigmatizazioa, *Miren Santos Eriza* eta *Eva Pereda Pereda*.....37

Omega-3en propietate onuragarriak alkoholak nerabezaroan eragiten dituen kalteak berreskuratzeko C57BL6/J sagu arretan, *Maitane Serrano Murgia, Leire Lekunberri Odriozola, Amaia Mimenza Saiz, Miquel Saumell Esnaola, Gontzal García Del Caño, Edgar Soria Gómez, Garazi Ocerin Amondarain, Itziar Bonilla Del Río, Nagore Puente Bustinza, Almudena Ramos Uriarte, Inmaculada Gerrikagoitia Marina, Izaskun Elezgarai Gabantxo, Irantzu Rico Barrio* eta *Pedro Grandes Moreno*.....45

EAE mendiko erreskate taldearen egoera fisikoa, *Aitor Pinedo-Jauregi* eta *Jon Mikel Picabea Arburu*.....53

Obesitatearen estigma osasun profesionalengan: literaturaren berrikuspena, *Tamara Evelin Gomez Castellon, Oihana Aguirreurreta Galarraga* eta *Eva Pereda Pereda*.....59

Lehen mailako prebentzio programa baten eragina nerabeen obesitatearen prebentzioan eta ongizate emozionalaren sustapenean. “Nerabeak astintzen” ikerketaren protokoloa, *Jone Galdos Madina, Karmele Salaberria Irizar, Pello Uriarte Moreno, Tamara Evelin Gomez Castellon, Amaia Díaz de Monasterioguren, Malen Ruiz de Azúa Larrinaga* eta *Eva Pereda Pereda*.....67

Kognitiboki hauskorrak diren pertsonengan narriadura kognitiboa eta dementzia prebenitzeko esku-hartze kognitibo eta sozio-emozional baten proposamena: GOIZ ZAINDUtik CITA GO-ONera, *Naia Ros Lopez, Nekane Balluerka Lasa, Mirian Ecay Torres, Arantxa Gorostiaga Manterola, Mikel Tainta Cuezva, Goretti Soroa Martinez, Aitor Aritzeta Galan* eta *Fátima García Pena*.....75

Gehiegizko pisuaren eta obesitatearen historia elikadura-nahasmendu murriztaileetan: berrikuspen sistematikoa, *Oihana Aguirreurreta Galarraga, Tamara Evelin Gomez Castellon* eta *Eva Pereda Pereda*.....83

Bilbo Handiko haur eta nerabeen perfil obesogenikoa, elikadura-ohiturak eta dieta mediterraneoa-rekiko atxikidura, *Silvia Caballero Sánchez* eta *Itziar Hoyos Cillero*.....91

Hipokanpoko CB_1 hartzailean funtzionamendua, berdina ar eta emeen artean?, *Lucia Sangroniz Beltran, Aitor Aranguren Alberdi, Pablo Reyes, Nicolas Landgraf, Itziar Bonilla Del Rio, Almudena Ramos, Pedro Grandes Moreno, Jon Egaña Huguet* eta *Edgar Soria Gomez*.....99

RNA luze ez kodetzaileak hesteetako hanturazko gaixotasunean, *Ane Olazagoitia Garmendia, Maialen Sebastian de la Cruz, Leire Bergara Muguruza, Henar Rojas Márquez, Alain Huerta Madrigal, Izortze Santin Gomez* eta *Ainara Castellanos Rubio*.....107

Psilozibinaren administrazio akutuaren eraginen ebaluazioa garun kortexean serotonina, noradrenalina eta dopamina mailak neurtuz: garun-mikrodialisiaren bidez burututako ikerlana esna dauden saguetan, *Nerea Martínez Álvarez, Inés Erkizia Santamaría, Igor Horrillo Furundarena, Jose Javier Meana Martinez* eta *Jorge Emilio Ortega*.....115

Gertuko biotinilazioa E2F7 transkripzio faktorearen interaktoma deskribatzeko estrategia gisa: TurboID sistemaren garapena, *Ekaitz Madariaga Carrero, James D. Sutherland, Jone Mitxelena Sánchez* eta *Ana M. Zubiaga Elordieta*.....123

Garun-aktibitatea fisioterapiak duen eraginkortasuna iragartzeko faktorea lepoko min kroniko ez espezifikoa duten pazienteetan, *Ander Cervantes Benitez, Aitor Aranguren Alberdi, Carmen Vidaurre, Ivan Carbajo, Ana Lersundi Artamendi, Iñaki Carrillo, Cristina Sarasqueta, Ane Arbillaga Etxarri* eta *Ion Lascurain Aguirrebeña*.....131

Alterazio kromosomikoak dituzten espermatozoideak identifikatzeko biomarkatzaileen hautaketa, *Ainize Odriozola Larrinaga, Itziar Urizar Arenaza, Beatriz Navarro, Irune Calzado Lopez, Malen Zabala Goikoetxea* eta *Nerea Subiran Ciudad*.....139

Zelula barneko zein jariatutako CEMIPek azaleko fibroblastoen mugikortasuna erregulatzen du, *Maria Larrinaga, Andrea Agüera Lorente, Ainhoa Alonso Pardavila, Maria Dolores Boyano Lopez, Juan Manuel Falcón Perez, Aintzane Asumendi* eta *Aintzane Apraiz*.....145

Bektore ez-biral lipidikoak garatzeko erabiltzen diren teknikak eta hauen garrantzia etorkizunerako, *Iván Maldonado Pérez, Jon Zarate Sesma, Gustavo Puras Ochoa, Lucia Enriquez Rodriguez, Idoia Gallego Garrido, Mohamed Mashal, Noha Attia* eta *José Luis Pedraz Muñoz*.....153

Epe luzerako ondorioak loki-lobuluko epilepsia sagu-eredu baten garunean, *Garazi Ocerin, Ilazki Anaut Lusar, Amaia Mimenza Saiz, Leire Lekunberri Odriozola, Maitane Serrano Murgia, Edgar Soria Gómez, Inmaculada Gerrikagoitia Marina, Irantzu Rico Barrio, Nagore Puente Bustinza, Jon Egaña Huguet, Izaskun Elezgarai Gabantxo* eta *Pedro Grandes Moreno*.....159

Morfinak hipometilazio globala eragiten du mES zeluletan autoerregulazioa daukan demetilazio aktibo baten bidez, *Manu Araolaza Lasa, Iraia Muñoa Hoyos, Ainize Odriozola Larrañaga, Irune Calzado Lopez, Malen Zabala Goikoetxea* eta *Nerea Subiran Ciudad*.....167

Herritarren ikuspegitik Bilboko auzo bateko jarduera fisikoaren hiri-ingurunea aztertzen, *Ainara San JuanEscudero, Julia Fernández Alonso, Silvia Caballero Sánchez, Iratxe Pérez Urdiales, Irati Ayesta Landaluce, Irrintzi Fernández Aedo, Sendoa Ballesteros Peña* eta *Leyre Gravina Alfonso*.....175

IKERGAZTE 2023
Nazioarteko Ikerketa Euskaraz
HITZAURREA

UEUk 50 urte bete berri dituen honetan euskal komunitate zientifiko-intelektuala trinkotzea du oraindik bere helburu garrantzitsuenetako bat. Horren erakuslea da, azken urteotan UEUren jardunaren ikurra izan den #ElkarEkin lelo eta traola. Elkar ezagutzea eta elkarlana ezinbestekoa da ezagutzak aurrera egin dezan, elkarrengandik ikasiz eta elkarrekin eraikiz.

Ildo horretatik, UEUk hainbat arlotako aditu, aritu eta ikertzaileak biltzen ditu ezagutza-arlo desberdinen inguruan antolatutako zenbait topaketa eta mintegitan: Informatikari Euskaldunen Bilkurak (12 edizio), Historialari Euskaldunen Topaketak (6 edizio), Hizkuntzalari Euskaldunen Topaketak (5 edizio), Matematikari Euskaldunen Bilkura (5 edizio), Osasun Zientzietako ikertzaileen topaketak (3 edizio) eta Natur Zientzietako ikertzaileen bilkurak (4 edizio), besteak beste, horren adibide argiak dira.

Bilkura horiei guztiei IkerGazte kongresua gehitu zitzaien 2015eko maiatzean. Ikerketa, euskara, gazteak eta diziplinartekotasuna izan ziren bilgune haren osagai nagusiak. Durangon hasitako bideak jarraipena izan zuen 2017an Iruñean, 2019an Baionan eta 2021ean Gasteizen. Aurten Donostian beteko du bosgarren edizioa, Kursaal Jauregian, maiatzaren 17, 18 eta 19an. IkerGazteren bosgarren ediziora inoiz baino artikulu gehiago aurkeztu dira, horrek erakusten du kongresu honen beharra eta eraikitzen ari den erreferentzialtasuna.

“IkerGazte2023: Nazioarteko Ikerketa Euskaraz” goiburu duen kongresuaren artikulu-bilduma dugu hau. Izenburuan *ikerketa*, *euskara* eta *gaztetasuna* bildu nahi izan ditugu. Ikusgarri egin nahi dugu Euskal Herriko ikertzaile gazteek egiten duten nazioarteko mailako ikerketa. Maiz nazioartean erakutsi eta aurkezten dira lan horiek, Euskal Herrian eta euskaraz aurkezteko aukera izan gabe. Kongresu honen helburua da komunitate zientifiko euskalduneko ikertzaileak bildu eta elkarren berri izatea, arlo guztiak jorratuz; hasi humanitateetatik eta gizarte-zientzietatik, eta zientzia zehatz, natur zientzia, ingeniaritza, arkitektura eta osasun-arloetako gaietaraino. Nazioartean ingelesez argitaratu ohi diren lanak euskaraz ere argitaratzeko eta zabaltzeko aukeraren aldeko apustua da.

Honelako kongresu bat aurrera eramateko ezinbestekoa da bai norbanakoen lan eskerga, baita erakunde publiko eta pribatu ugariren laguntza ere: UEUko lantaldetik hasita, UEUkideak, IkerGazteren Batzorde Zientifikoko ikertzaileak eta Batzorde Dinamizatzaileko ikertzaile gazteak, baita babesleak, laguntzaileak (unibertsitateak, ikerketa-taldeak zein aldizkari zientifikoak) eta komunikabideak ere. Horiez gain, aurten Gipuzkoako Foru Aldundiaren laguntza izan dugu kongresuaren antolaketan, eta, bestalde, Donostiako Udalak eta Udalbiltzak sariak babestu dituzte. IkerGazte kongresuko 5. edizio honetan Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza, Hizkuntza Politika eta Kultura Saila izan dugu laguntzaile, kongresu eta bilera zientifikoak antolatzeko dirulaguntzaren bitartez. Horrez gain, IkerGazteren ibilbidean hainbat pertsonak erakutsitako atxikimendua ere aipatu nahi dugu. Esker mila, guztiei.

Bosgarren edizioa du aurtengoan IkerGaztek, eta aurreko edizioa osasun-krisi betean antolatu ondoren, nolabaiteko normaltasuna berreskuratzeko asmoz ekin diogu kongresuaren antolaketari.

Presentzialtasunak, elkargune formal eta informalak, saio paraleloek eta posterren guneak ohiko formatura itzuli garela erakusten digute, baina aurreko ediziotik ikasitakoa gogoan. Diziplinartekotasuna edo jakintza-arloen mugak gainditzeko asmoz ikertzaileentzat saio plenario ugari eta era askotakoak antolatu ditugu: mikroaurkezpenak, hitzaldi-saioak edo taldetan aritzeko dinamikak.

Aurretik esan bezala, inoiz baino komunikazio gehiago jaso ditugu, 172. Ebaluazio-prozeduraren ondoren, aurreko edizioko kopuruetatik oso gertu gelditu da onartutako komunikazio-kopurua, 155 komunikaziorekin. Prozesu osoa amaituta, ordea, IkerGazte kongresuan, 52 lan ahoz eta 99 poster moduan aurkeztuko dira.

Jakintza-arloei dagokienez hauek dira zenbakiak:

Giza Zientziak eta Artea	16
Gizarte Zientziak eta Zuzenbidea	32
Ingeniaritza eta Arkitektura	29
Osasun Zientziak	22
Zientzia Zehatzak eta Natur Zientziak	52

Diziplinena ez ezik, unibertsitate eta ikerguneen topalekua ere bada IkerGazte eta bateko eta besteko ekarriak biltzen dituzte aurkezten ari garen lanok. Ikertzaileen filiazioari dagokionez, aurreko edizioetakoari eusten dio. Bost liburu hauetako gehienak Euskal Herriko Unibertsitatekoak (UPV/EHU) dira, 116 ekarpen (% 74,8). Mondragon Unibertsitateko ikertzaileek 8 ekarpen egin dituzte, aurreko edizioan baino 3 gutxiago. Deustuko Unibertsitateak 5 lan aurkeztu ditu; aurreko edizioan baino 4 lan gehiago. Nafarroako Unibertsitateak 4 komunikazio eta Nafarroako Unibertsitate Publikoak 3 lan aurkeztu ditu. CNRS-IKER zentroaren ekarpen bakarra jasoko da.

Honako unibertsitate hauetatik ere ekarpenak jaso dira: Universidad Complutense de Madridetik 3 ekarpen, eta Universitat Politècnica de Catalunyatik (UPC) eta Darmstadt University of Applied Sciencesetik komunikazio bana.

Ekarpen askotan unibertsitateei atxikitako ikerketa-zentroak eta taldeak aipatzen dira; besteak beste, Plentziako Itsas Estazioa (PIE), NU-Cima, NU-Tecnun, BioDonostia, BioAraba eta BioCruces Osasun Ikerketa Institutuak, BCMaterials, Polymat, CSIC, MU-Ikerlan, Achucarro Basque Center for Neuroscience edo CIC-energyGUNE. Beste ikerketa-zentro hauek ere parte hartu dute edizio honetan: Aranzadi Zientzi Elkartea, AZTI zentro zientifiko eta teknologikoa, BC3 ikerketa-zentroa, CEIT zentro teknologikoa, Institut de Recerca Germans Trias i Pujol, ICIQ – Institut Català d'Investigació Química eta Osasunbidea, beste batzuen artean.

Bost edizio betetzera goaz 2023ko edizio honetan, eta badugu oraindik ere zertan eragin. Bi urtean behin errepikatzeari eutsiko diogu. Beraz, adi, Ikergazte2025 etorriko da-eta!

Olatz Arbelaitz Gallego, Ainhoa Latatu Nuñez eta Elixabete Perez-Gaztelu

BATZORDEAK, LAGUNTZAILEAK ETA HIZLARIAK

Batzorde Zientifikoa

Batzordeburuak: Olatz Arbelaitz (UPV/EHU, UEU)
Elixabete Perez-Gaztelu (Deustuko Unibertsitatea)
Koordinatzailea: Ainhoa Latatu (UEU)
Idazkaria: Ane Garetxana (UEU)

Giza Zientziak eta Artea

- Itziar Aduriz (Bartzelonako Unibertsitatea, UEU)
- Agustin Arrieta (UPV/EHU)
- Haizea Barcenilla (UPV/EHU)
- K. Josu Bijuesca (Deustuko Unibertsitatea)
- Urtzi Etxeberria (CNRS-IKER Euskara eta euskal testuen ikerketa-zentroa)
- Aritz Irurtzun (CNRS-IKER, UEU)
- Kepa Korta (UPV/EHU)
- Elizabete Manterola (UPV/EHU, UEU)
- Ismael Manterola (UPV/EHU, UEU)
- Elixabete Perez Gaztelu (Deustuko Unibertsitatea)
- Blanca Urgell (UPV/EHU)

Gizarte Zientziak eta Zuzenbidea

- Luzia Alberro (Deustuko Unibertsitatea, UEU)
- Josu Amezaga (UPV/EHU, UEU)
- Amaia Arroyo (MU, UEU)
- Aitor Bengoetxea (UPV/EHU, UEU)
- Eneko Bidegain (MU, UEU)
- Lore Erriondo (UPV/EHU, UEU)
- Javier Esteban (UPV/EHU)
- Rakel Gamito (UPV/EHU, UEU)
- Elixabete Imaz (UPV/EHU)
- Mikel Iruskieta (UPV/EHU, UEU)
- Xabier Landabidea (Deustuko Unibertsitatea, UEU)
- Libe Mimenza (UPV/EHU, UEU)
- Bea Narbaiza (UPV/EHU)
- Ixusko Ordeñana (UPV/EHU)
- Josune Saenz (Deustuko Unibertsitatea)
- Eguzki Urteaga (UPV/EHU)

Zientzia Zehatzak eta Natura Zientziak

- Noelia Aldai (UPV/EHU)
- Arantza Aldezabal (UPV/EHU, UEU)
- Estibaliz Apiñaniz (UPV/EHU, UEU)
- Itziar Aretxaga (INAOE)
- Gorka Elordi (UPV/EHU)
- Arturo Elosegi (UPV/EHU, UEU)
- Nestor Etxebarria (UPV/EHU, UEU)
- Kizkitza Insausti (NUP)
- Natxo Irigoien (NUP)

- Josu Jugo (UPV/EHU, UEU)
- Ainhoa Latatu (GOI, UEU)
- Josu Lopez Gazpio (GOI, UEU)
- Ane Sarasola (UPV/EHU)
- Jone Uria Albizuri (BCAM)

Ingeniaritza eta Arkitektura

- Olatz Arbelaitz (UPV/EHU, UEU)
- Gorka Azkune (UPV/EHU)
- Ander Goikoetxea (MU)
- Enkarni Gomez (UPV/EHU)
- Mari Luz Guenaga (Deustuko Unibertsitatea)
- Miren Larrion (UPV/EHU, UEU)
- Diego Lopez de Ipiña (Deustuko Unibertsitatea)
- Iñigo Martinez de Alegria (UPV/EHU)
- Igor Peñalba (UPV/EHU)
- Olatz Perez de Viñaspre (UPV/EHU, UEU)
- Maialen Sagarna (UPV/EHU)
- Arkaitz Zubiaga (University of Warwick)

Osasun Zientziak

- Rafael Aldabe (CIMA, UNAV)
- Mikel Azkargorta (CIC Biogune)
- Nekane Balluerka (UPV/EHU, UEU)
- Jose Ramon Bilbao (UPV/EHU, Gurutzetako Ospitalea)
- Koldo Callado (UPV/EHU, UEU)
- Izaskun Elezgarai (UPV/EHU, UEU)
- Iraia Garcia (UPV/EHU)
- Jone Mitxelena (UPV/EHU)
- Miren Josu Omaetxebarria (UPV/EHU, UEU)
- Nerea Osinalde (UPV/EHU)
- Jose Antonio Rodriguez (UPV/EHU)
- Izortze Santin (UPV/EHU)

Beste gainbegirale batzuk

- Mila Amurrio (UPV/EHU, UEU)
- Eneritz Anakabe (UPV/EHU, UEU)
- Iñaki Antiguedad (UPV/EHU, UEU)
- Sonia Arrasate (UPV/EHU, UEU)
- Ainhoa Azurmendi (UPV/EHU)
- Ibon Cancio (UPV/EHU, UEU)
- Joserra Diez (UPV/EHU, UEU)
- Maia Duguine (CNRS-IKER, UEU)
- Mari Luz Esteban (UPV/EHU, UEU)
- Enekoitz Etxezarreta (UPV/EHU, UEU)
- Koldo Garcia (Biodonostia OII, UEU)
- Karlos Ibarguren Olalde (Osakidetza, UEU)
- Amaia Irazusta (UPV/EHU)
- Ander Iturriotz (UPV/EHU, UEU)
- Maider Iturrondobeitia (UPV/EHU)

- Amaia Irazusta (UPV/EHU)
- Maider Iturrondobeitia (UPV/EHU)
- Xabier Lopez (UPV/EHU)
- Eduardo Ogando (UPV/EHU)
- Maitane Olivares (UPV/EHU)
- Monika Ortueta (UPV/EHU)
- Maria Paulis (UPV/EHU)
- Iratxe Retolaza (UEU)
- Oihane Sanz (UPV/EHU)
- Maialen Sistiaga (UEU)
- Itziar Villafañez (UPV/EHU)
- Iker Villanueva (Deustuko Unibertsitatea, UEU)
- Ane Zabaleta (UPV/EHU, UEU)
- Beñat Zaldibar (UPV/EHU)
- Idoia Zarrazquin (UPV/EHU)
- LuisMari Zulaika (UPV/EHU)

Batzorde Dinamizatzailea

- Begoña Altuna (UPV/EHU, UEU)
- Maitane Basasoro (UPV/EHU, UEU)
- Aitor Cevidanes (Neiker, UEU)
- Jon Egaña (UPV/EHU)
- Unai Lertxundi (Nafarroako Unibertsitatea)

Batzorde Teknikoa

- Ander Altuna (hizkuntza-zuzentzailea)
- Emilio Delgado (IKT arduraduna)
- Ane Garetxana (koordinazio teknikoa)
- Idoia Torregarai (komunikazio-arduraduna)
- Ane Sarasua (UEUko idazkari nagusia)

Ikerketa-talde laguntzaileak

- Aholab Signal Processing Laboratory ikerketa-taldea: HiTZ Zentroa: UPV/EHUko ahotsaren tratamendu automatikoaren inguruko ikerketa-taldea.
- Antropologia Feminista Ikerketa Taldea (AFIT-UPV/EHU).
- Catalysis and sustainable polymers ikerketa-taldea (Polymat-UPV/EHU).
- ELEBILAB. UPV/EHUren Elebitasunaren Laborategia.
- FisioKlima-AgroSosT ikerketa-taldea (UPV-EHU).
- Gaixotasun immuneen genetika funtzionala Ikerketa Taldea @FunImmune: UPV/EHUko ikerketa-taldea.
- IKER Ikerketa Zentroa. Euskara eta Euskal Testuen Ikerketa Zentroa, Ikerketa Zientifikoaren Erakunde Nazionalaren (CNRS), Bordele Montaigne Unibertsitatearen eta Paueko eta Aturri Herrialdeetako Unibertsitatearen (UPPA) gerizpeko ikerketa-gune mistoa da (UMR).
- Ikerketa eta Berrikuntza Analitikoa (IBeA). (Zientzia eta Teknologia Fakultatea UPV/EHU).
- IXA Ikerketa Taldea: HiTZ Zentroa: UPV/EHUko hizkuntzaren tratamendu automatikoaren inguruko ikerketa-taldea.
- Jokabide-Ekologia eta Eboluzioa Saguzarretan Ikerketa Taldea. UPV/EHU.
- KoLaborategia Ikerketa Taldea: HUHEZI-MUko Gizarte Digitalerako Hezkuntza eta Komunikazioaren Laborategia.

- Lactiker Ikerketa Taldea : UPV/EHUko ikerketa-taldea.
- Materialen ezaugarri termofisikoen ikerketa-taldea: UPV/EHUko ikerketa-taldea.
- Minbiziaren Biologia Molekularra Ikerketa Taldea (MOLBIOL-CANCER): UPV/EHUko ikerketa-taldea.
- Neuropsikofarmakologia Ikerketa Taldea: UPV/EHUko ikerketa-taldea.
- NOR Ikerketa Taldea: UPV/EHUko Ikus-entzunezko Komunikazio eta Publizitate Saileko ikerketa-taldea.
- Parte Hartuz Ikerketa Taldea. UPV/EHUko Gizarte Zientzien esparruko ikerketa-taldea.

Aldizkari zientifiko laguntzaileak

- BAT. Soziolinguistikan eta glotopolitikan espezializatutako aldizkaria.
- EKAIA. Euskal Herriko Unibertsitateko zientzia- eta teknologia-aldizkaria da.
- ELHUYAR ZIENTZIA ETA TEKNOLOGIA aldizkaria.
- JAKIN. Giza eta gizarte zientzien alorreko kultur aldizkaria.
- OSAGAIZ. Osasun-zientzien aldizkaria
- TANTAK. Euskal Herriko Unibertsitateko Hezkuntza eta Pedagogiaren arloko aldizkaria.
- UZTARO. UEUk kudeatzen duen giza eta gizarte-zientziei buruzko aldizkaria.

Hizlari gonbidatuak

- Maia Duguine. Hizkuntzalaritzan doktorea, CNRSko ikertzailea da Baionako IKER laborategian. Ikertzailea izan zen Cambridgeko Unibertsitatean, baita irakaslea UPV/EHUko Hizkuntzalaritza eta Euskal Ikasketak Sailean. UEUkidea ere bada.
- Mari Luz Esteban. UPV/EHUko irakaslea eta ikertzailea izateaz gain, Ikasketa Feministak eta Generokoak Doktorego Programa eta AFIT-Antropologia Feministaren Ikerketa Taldea koordinatzen ditu. UEUkidea ere bada.
- Unai Pascual. Ekonomia Ekologikoan doktorea, Ikerbasqueko ikertzailea da Klima Aldaketari buruzko Euskal Zentroan (BC3), eta Bernako Unibertsitateko (Suitza) Garapen eta Ingurumen Saileko kidea da.
- Sophie Scott. CBE University College London-eko Neurozientzia Kognitiboko zuzendaria da.

Hitzaldi-saioak eta hizlariak

- CLARIAH-EUS: Ikertzeko molde berrien azpiegitura.
  Hizlariak: Nayla Escribano (Ixa Taldea, HiTZ Zentroa, UPV/EHU), Xabier Sarasola (Orai NLP Teknologiak) eta Begoña Altuna (Ixa Taldea, HiTZ Zentroa, UPV/EHU eta UEU).
- "Argitaratutako ikerketa baten arabera": makulu-hitzen garaiko komeriak.
  Hizlaria: Uxune Martinez (Euskanpus Fundazioa eta UEU).
- Ikertzaileen osasun mentala: gakoak eta konponbideak.
  Hizlariak: Beñat Garaio (freelance ikertzailea (Biziherri IGB) eta Koldo Mitxelena sariduna) eta Eider Saragueta (UPV/EHUko ikertzaile eta irakaslea).
- IkerGazte kongresuaren produkzioa.
  Hizlariak: Marije Bidaguren (UEU), Aitzol Astigarraga (UEU-GOI) eta David Lindemann (UPV/EHU eta UEU).

Gailu elektroniko kardiakoak dituzten pazienteen esplantearen osteko kudeaketaren ezagutzak, lehentasunak eta berrerabilpenaren inguruko iritziak

Iñigo Lorenzo Ruiz[1,2]

Erizaintza I Departamentua, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU. Sarriena, Leioa.

BioCruces-Bizkaia Health Research Institute, Barakaldo.

inigo.lorenzo@ehu.eus

Laburpena

Inplantatzen diren gailu elektroniko kardiakoen berrerabilpena arrakastatsua izan da errenta baxu eta ertaineko herrialdeetan egin diren eskala txikiko programetan. Aurreko ikerketek Estatu Batuetako paziente, mediku eta hileta-zuzendari gehienek eta diru-sarrera baxuko eta ertaineko herrialdeetako hartzaile potentzialek gailuen dohaintza onartzen dutela deskribatu dute. Espainian dohaintza programa ezartzeko aukera egon badagoela ere, gaur egun ez dago tokiko pazienteek alderdi horiei buruz duten iritziaren daturik. Azterketa honek esplantearen osteko kudeaketaren ezagutzak, lehentasunak eta inplanta daitezkeen gailu elektroniko kardiakoen berrerabilpenari buruzko iritziak deskribatzen ditu.

Hitz gakoak: Gailu elektroniko kardiakoak, pazienteak, ezagutzak, iritziak, berrerabilpena.

Abstract

Reuse of cardiac implantable electronic devices has been successful in many small-scale missions in Low- and Middle-Income Countries. Previous studies have described that the vast majority of patients, physicians and funeral directors in the United States and potential recipients in Low- and Middle-Income Countries support device donation. Although there is a potential possibility of implementing donation programme in Spain, there is currently no data available of local patients' views about these aspects. This study aimed to describe the knowledge, preferences of post-explant management and opinions towards device donation of patients with cardiac implantable electronic devices.

Keywords: Cardiac implantable electronic devices, patient, knowledge, opinions, reuse.

1. Sarrera eta motibazioa

Gaixotasun kardiobaskularrak osasun publikoko arazo garrantzitsu bat dira errenta baxu eta ertaineko herrialdeetan (Yusuf et al., 2020). Gaixotasun kardiobaskularrekin lotutako hilkortasuna eta erikortasuna prebenitzeko eta tratatzeko ahalegin orokorrak egiten diren arren, bihotz-erritmoaren nahasmenduak bereziki baztertutako talde bat dira, kostu diagnostiko eta terapeutiko handia suposatzen dutelako (Mkoko et al., 2020).

Gailu kardiako elektronikoen kostu altua herrialde hauetan tratamendu ezaren oztoporik esanguratsuena da, gailuek normalean errenta baxu eta ertaineko pertsona askoren urteko "per capita" ekoizpen ekonomikoa gainditzen baitute (Runge et al., 2017). Literaturak iradokitzen du behar bezala esterilizatutako gailu elektroniko kardiako inplantableak beste paziente batzuetan berrerabiltzea praktika segurua dela. Izan ere, azken meta-analisiak ez du alde handirik aurkitu infekzioa, funtzionamendu okerra, bateriaren agortze goiztiarra, edo heriotza berrerabilitako gailuak gailu berriekin alderatzean (Psaltikidis et al., 2021). Hori dela eta, gailu kardoako elektroniko inplantableen berrerabilpena aukera errentagarri gisa defendatzen da gailu berrietarako sarbidea ez dagoenean (Kirkpatrick et al.,2017; Ochasi & Clark, 2015; Nava et al 2013).

Errenta altuko herrialdeek emandako gailu erabilien berrerabilpena arrakastatsua izan da errenta baxu eta ertaineko herrialdeetan egin diren eskala txikiko programa askotan (Hasan el

at., 2011; Baman et al., 2011; Wunderly et al., 2018). Eraberritutako gailuak, errenta baxu eta ertaineko herrialdeei emateak eragile askoren inplikazio koordinatua eskatzen du (Sinha et al., 2018). Aurreko ikerketen berrikuspen batek Estatu Batuetako paziente, mediku eta hileta-zuzendari gehienek eta errenta baxu eta ertaineko hartzaile potentzialek gailuak berrerabiltzeko dohaintza onartzen dutela deskribatu du (Lorenzo, 2022). "Project My Heart Your Heart" edo "Stimubanque" gailuen berrerabilpen antolatutako ekimenen adibide garbiak dira. Gailuak errekuperatu, analizatu, birprozesatzen eta bidaltzen dituzte eta errenta baxu eta ertaineko herrialdeen tratamendu faltari hil osteko gailuen dohaintza konponbidea izan daitekeela defendatzen dute (PMHY, 2022; Stim-development, 2022).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Nazio mailan aipatuen antzeko ekimenik ez dagoen arren, azken inkesten arabera, Espainian ehorztetxeetan esplantatutako gailu kardiako elektronikoen %20 inguru berrerabilgarria da eta Espainiako Erritmo Elkarteko elektrofisiologo gehienek errenta baxu eta ertaineko herrialdeetan paziente behartuei gailuak ematearen alde dago (Ruiz et al., 2022; Lorenzo et al 2022). Dimentsio legalak adierazten du gailuen jabetza pazienteena dela gailua gorputzean ezartzen den unean eta, beraz, gailuaren ondorengo edozein erabilerari buruz erabakitzeko eskubidea (esaterako, dohaintza). Hala ere, hil ondorengo gailuak emateko programa ezartzeko aukera badago ere, gaur egun ez dago pazienteen gailuen berrerabilpenari buruz duten iritziei buruzko daturik.

Hori dela eta, ikerketa honek Espainian gailu kardiako elektroniko ezarriak dituzten pazienteen gailuen dohaintzari buruzko ezagutza, lehentasunak eta iritziak deskribatzea eta aldagai soziodemografiko ezberdinekin dituzten korrelazioak aztertzea izan zen.

3. Ikerketaren muina

3.1 Metodologia

Ikerketa deskribatzailea egin zen Bilboko Basurtuko Unibertsitate Ospitaleko elektrofisiologia saileko gailu kardiakoak inplantatuak zituzten pazienteetan. 2021eko otsailetik urrira bitarteko hilabeteetan, ikerketan parte hartzeko informazio-orriak eta baimen informatua inprimakiak banatu ziren. Galdetegia 17 galdera ireki, dikotomiko, aukera anitzeko eta 5 puntuko Likert eskala (1= Guztiz ados, 2= Ados, 3= Neutro, 4= Ez ados, 5= Erabat ez ados) izan zen. Pazienteek borondatez eta pertsonalki sinatu zuten baimen informatua jarraipen kontsulta batean, gero telefonoz elkarrizketatu eta galdetegia betetzeko 2021eko abenduan.

Datu soziodemografikoak bildu ziren, hala nola, adina, sexua, ikasketa-maila, egoera zibila, seme-alabak edo maskotak izatea, aurretiazko borondateak edo bizi testamentuak eta hil osteko haien gorpuaren kudeaketari buruzko lehentasunak.

Gailu motari, inplantatutako gailu totalen kopuruari, lehen gailuaren inplantazio datari eta ospitaleetan eta ehorztetxeetan esplantatutako gailuen ohiko manipulazioari buruzko ezagutzak ere bildu ziren, baita lehentasunak ere. Azkenik, pazienteek haien iritzia adierazi zituzten; inplanteei buruzko bizi-testamentua edukitzearekin adostasun maila adieraziz, haien inplanteak hil osteko kudeaketari buruzko lehentasunak adieraziz eta haien gailuak gailu berrietarako sarbidea ez duten pazienteetan berrerabiltzeko programa batera dohaintzearekiko iritziak adieraziz.

3.1.1 Analisi estatistikoa:

Aldagai kuantitatiboen deskribapenerako, batez bestekoa, desbideratze estandarra eta balio minimoak eta maximoak erabili ziren. Aldagai kualitatiboetarako, maiztasunak eta ehunekoak erabili ziren. Aldagai kualitatiboak Pearsonen Chi-karratuaren proba erabiliz alderatu ziren. Aldagai kuantitatiboen banaketa aztertu ondoren, Anova edo Kruskal-Wallis proben bidez

konparatu ziren, <0,05-ko p-balioa estatistikoki esanguratsutzat eman zen. Analisi guztiak IBM® SPSS® Statistics 23 erabiliz egin ziren.

3.2 Emaitzak:

3.2.1 Parte-hartzaileen ezaugarri orokorrak:

Baimen-informatua sinatu eta ikerketan parte hartzeko euren telefono zenbakia eman zuten 136 pazienteetatik, 118 parte hartu zuten azkenean (erantzun-tasa % 86,7). 1. taulak parte-hartzaileen ezaugarri orokorren laburpena erakusten du.

1. Taula: Parte hartzaileen ezaugarri orokorrak.

		n (%)	Bataz-bestekoa ± desbideratze estandarra [min-máx.]
Adina			73,85 ± 10,44 [51,31-95,74]
Sexua	Gizonezkoa	78 (66,1)	
	Emakumezkoa	40 (33,9)	
Gailu mota	Pausu-markagailua	92 (78)	
	Desfibriladorea	17 (14,4)	
	Bersinkronizazio kardiakoko terapia dispositiboa	9 (7,6)	
Inplantaturiko gailu kopuru osoa	Bat	104 (88,1)	
	Bi	8 (6,8)	
	Hiru	6 (5,1)	
Inplantaturiko gailu batekin denbora urteetan			2,01 ± 3,51 [0,12-16,71]
Hezkuntza maila	Hezkuntza gabea	30 (25,4)	
	Oinarrizko hezkuntza	56 (47,5)	
	Bigarren mailako hezkuntza	18 (15,3)	
	Unibertsitate hezkuntza	14 (11,9)	
Egoera zibila	Ezkongabea	6 (5,1)	
	Ezkondua	80 (67,8)	
	Bizi-alarguna	10 (8,5)	
	Alarguna	22 (18,6)	
Maskota dauka	Bai	12 (10,2)	
	Ez	106 (89,8)	
Seme-alabarik dauka	Bai	110 (93,2)	
	Ez	8 (6,8)	
Testamentua edo aurretiazko borondateak dauzka	Bai	20 (16,9)	
	Ez	98 (83,1)	
Hil ostean gorpua maniatzeko lehentasuna	Hilobiratzea	32 (31,4)	
	Errausketa	70 (68,6)	

3.2.2 Esplantatutako gailu kardiako elektronikoen ohiko kudeaketari buruzko ezagutzak:

Pazienteek ospitaleetan eta ehorztetxeetan esplantatutako gailuen ohiko manipulazioari buruzko ezagutza eskasa erakutsi zuten, izan ere, bi kasuetan, gehien-gehienek adierazi zuten ez zekitela zein zen prozesu ohikoa (%65,3 eta %61,9 hurrenez hurren). Era berean, bi kasuetan ohikoena izan zen bigarren erantzuna giza berrerabilpenerako dohaintzen zirela izan zen, bi kasuetan %18,6 eta %26,3-rekin, gaur egun nazio mailan praktikatzen ez dena. 2. taulan jasotako erantzunen laburpena agertzen da.

2. Taula: Esplantatutako gailuen ohiko kudeaketari buruzko ezagutzak.

	Zein da ospitale batean esplantatzen den gailu baten ohiko kudeaketa?	Zein da ehorztetxe batean esplantatzen den gailu baten ohiko kudeaketa?
	n (%)	
Gizakietan berrerabiltzeko dohaintzen da	22 (18,6)	31 (26,3)
Hondakin gisa bota eta osagaiak birziklatzen dira	17 (14,4)	14 (11,9)
Pazienteari/senideei itzultzen da	2 (1,7)	0 (0)
Ez dakit	77 (65,3)	73 (61,9)

3.2.3 Esplantatutako gailu kardiako elektronikoak maneiatzeko lehentasunak:

Haien gailuen esplantatu osteko kudeaketari buruzko lehentasunak adieraztea eskatu zitzaien parte hartzaileei. Parte-hartzaileen gehiengo zabalak gizakietan berrerabiltzeko dohaintzarako lehentasuna zuela ikusi zen (%86,2 ospitaleko esplantazioetarako eta %79,3 ehorztetxeko esplantazioetarako). 3. taulak galdera hauei emandako erantzunen laburpena erakusten du.

3. Taula: Esplantatutako gailuei buruzko lehentasunak.

	Zer egingo zenuke ospitale batean esplantatzen den gailu batekin?	Zer egingo zenuke ehorztetxe batean esplantatzen den gailu batekin?
	n (%)	
Gizakietan berrerabiltzeko dohaintzan eman	100 (86,2)	92 (79,3)
Animalietan berrerabiltzeko dohaintzan eman	0 (0)	10 (8,6)
Hondakin gisa bota eta osagaiak birziklatu	6 (8,6)	5 (4,3)
Ez dakit	10 (8,6)	9 (7,8)

3.2.4 Gailu kardiako elektronikoen dohaintzari buruzko iritziak:

Parte-hartzaileen %81,9k adierazi zuen ados edo guztiz ados zeudela bizi testamentu bat edukitzearekin, hil ondoren haien inplanteen kudeaketari buruzko lehentasunak islatzeko.

Azkenik, gailu berrietarako sarbidea ez duten pazienteetan berrerabil ditzakeen programa batera haien gailua esplantatua izan ostean emateko iritziaz galdetuta, %89,8k adierazi du horrekin ados edo guztiz ados zeudela. Honela, datu hauek errenta baxu eta ertainetan gailuen

dohaintzaren onarpen zabala iradokitzen dute gailuak potentzialki eman ahal zituzten inguruko pazienteetan.

3.2.5 Korrelazio azterketa:

3.2.5.1 Aldagai soziodemografiakoak eta ezagutza:

Ospitaleetan esplantatutako gailuen ohiko manipulazioaren ezagutzari dagokionez, aurkikuntzarik garrantzitsuenak eramandako gailu kopuruari dagokionez (p=0,002) eta gailu bat inplantatuta izandako urteen arteko aldeak izan dira (p=0,032). Joera horrek erakutsi zuen zenbat eta gailu kopurua handiagoa izan eta zenbat eta urte gehiago inplantatutako gailu batekin, orduan eta ezagutza gehiago zutela pazienteek.

Ehorztetxeetan esplantatutako gailuen manipulazioari buruzko ezagutza parte-hartzaileen ikasketa-mailarekin erlazionatuta egon zen (p=0,015), lehen hezkuntza zutenek ohiko manipulazioa zuzen adierazteko aukera gehien zutelarik.

3.2.5.2 Aldagai soziodemografikoak eta lehentasunak:

Ospitaleetan esplantaturiko gailuen maneiuari buruzko lehentasunak adinarekin erlazionatuta egon ziren (p=0,04), paziente gazteagoek gizakietan berrerabiltzearen aldeago zeuden. Egoera zibila baita ere erlazioa zuen (p=<0,01), bizi-alargunak ziren paziente guztiek gizakietan gailuak berrerabiltzearen alde zeudelarik.

Ehorztetxeetan esplantatutako gailuen maneiuari buruzko lehentasunei dagokienez, estatistikoki esanguratsuak ziren desberdintasunak aurkitu ziren adinarekiko (p=0,04). Paziente gazteagoek gailuak animalietan edo gizakietan berrerabiltzearen aldekoak zirelarik. Egoera zibilarekiko baita ere desberdintasun nabarmenak aurkitu ziren (p=0,007). Sexuarekin ere korrelazio bat aurkitu zen (p=0,031), emakumeek gailuak gizakietan berrerabiltzearen alde gehiago zeudelarik (%94,7) gizonezkoek baino (%71,8).

3.2.5.2 Aldagai soziodemografikoak eta iritziak:

Norbere gorpuaren hil osteko manipulazioari buruzko lehentasunak pazienteak haien inplanteak hil ostean kudeatzeko bizi testamentu dokumentu bat izatearekin erlazionatu ziren (p=0,024). Erantzun positiboak soilik kontuan hartuta, errausketa lehentasun moduan aukeratu zuten pazienteek, oro har, dokumentuaren aldekoagoak ziren (%84,8) lurperatzea nahiago zuten pazienteek baino (%65,6).

Ez zen korrelaziorik aurkitu aztertutako aldagai soziodemografikoen eta norbanakoaren gailu kardiakoa baliabiderik ez zuten errenta baxuko eta ertaineko pazientetan berrerabilia izateko dohaintzan emateari buruzko iritzien artean.

4. Ondorioak

Gailu kardiako elektronikoak inplantaturik dituzten pazienteen ehuneko handi batek ez daki nola tratatzen diren hauek behin esplantatuak izaterakoan. Hala eta guztiz ere, eramaile gehienen lehentasuna gailu berrietara sarbidea mugatuta duten pazienteei dohaintza da. Gailuen dohaintza-ekimen bat nazio mailan ezartzeak tratamendu aukera bat eman diezaieke errenta baxu eta ertainetako paziente askori.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Ikerketa honek hainbat muga ditu. Alde batetik, lagina eremu geografiko bakar batera mugatu zen eta, beraz, baliteke ikuspegiak herrialde osora orokortu ezin izatea. Ikerketa nazio mailan zabaltzea interesgarria izango litzateke, ikuspegi zabalago bat eduki ahal izateko fenomeno

hauei buruz. Gainera, gerta daiteke datu-bilketan parte hartzea adostu zuten pazienteek aurretik berrerabilpenari buruzko interes handiagoa izatea.

Ikerketa honen aurkikuntzarik garrantzitsuena lagineko bihotzeko gailuak zituzten parte-hartzaile gehienek inplanteen esplantearen osteko ohiko kudeaketa ezagutzen ez dutela da. Hala eta guztiz ere, errenta baxu eta ertaineko herrialdeetan berrerabiltzeko gailuen dohaintzaren lehentasun argia erakutsi zuten. Aurkikuntza hauek bat datoz aurreko ikerketekin, zeinetan pazienteen %68k adierazi zuen ez zekiela gailuen kudeaketa garraiatzailea hil ondoren, eta %87k dohaintzaren alde egin zuen (Gakenheimer et al., 2011).

Lagin honetan, inplantatutako gailuen kopurua eta gailu batekin egondako denbora korrelazionatuta egon dira esplantearen ondorengo manipulazioari buruzko ezagutza handiagoekin. Logikoa da ondorioztatzea hori gailuekiko ezagupen handiagoa izateagatik izan daitekeela, baita jarraipen-kontsultetan edo hautazko gailuaren ordezkapenaren ondoren xehetasun gehiago eman zezaketen profesionalekiko harreman-maiztasun handiagoa izateagatik ere.

Lehentasunak parte-hartzaileen egoera zibilarekin eta generoarekin ere erlazionatu ziren. Emakumeek gailuak berrerabiltzearekiko lehentasun handiagoa erakutsi zuten. Genero desberdintasunak nortasunaren dimentsioa kontuan hartuta azal litezke. Emakumeak, oro har, gizonak baino errukitsuagoak dira eta horrek azal lezake gailuak, errenta baxu eta ertainetako herrialdeetan berrerabiliak izatearekiko duten joera handiagoa (Weisberg et al., 2011). Familia-ingurunearen eragina ere faktore garrantzitsua dela dirudi, zehatzago azter litekeena, adibidez, ikuspegi metodologiko kualitatibo batetik.

Hil ondoren erraustea nahiago zutela adierazi zuten parte-hartzaileek testamentu-dokumentua izatearen aldeagokoak izan ziren, haien hilondoko inplanteak kudeatzea adierazteko. Honek ikuspuntu moraletik eztabaidatzea merezi lukeen puntu interesgarri bat planteatzen du. Gaixoaren nahiaren arabera gailu kardiakoen dohaintzari atea irekitzeko aukera da dokumentu horren aldeko faktoreetako bat, baita nazio mailako dohaintza programa bati behar den legezko estaldura ematea ere (Logani et al., 2011). Bestalde, zehaztapen egokiekin, errausketa-prozesuaren ondoren berreskuratzen diren eta industria ezberdinetarako balio duten beste inplante-motekiko (belaunekoak, aldakakoak, hortzak..) pazienteek zer lehentasun dituzten adierazteko balioko luke (Glister & Glister, 2013).

Fabrikatzaileek maiz gailu kardiako elektronikoak dohaintzan eman edo ongintzazko programen bidez eskuragarri jartzen badituzte ere errenta baxu eta ertaineko herrialdeetan, eskariak eskaintza gainditzen jarraitzen du. Hil ostean gailuak berreskuratzea iturri ezagun handia da (Zamani et al 2012; Baman et al., 2012). Hori dela eta, kontuan izanda gaur egun hil ostean baztertzen diren gailu berrerabilgarrien ehunekoa ez dela arbuiagarria eta bertako paziente eta elektrofisiologoak dohaintzaren alde daudela, interesgarria litzatekeela gailu kardiako elektronikoak berrerabiltzeko programa bat ezartzeko aukeraz eztabaidatzea.

6. Erreferentziak

Baman TS, Crawford T, Sovitch P, et al. (2012): Feasibility of postmortem device acquisition for potential reuse in underserved nations. Hear Rhythm. 9(2):211-214. doi:10.1016/j.hrthm.2011.09.067

Baman TS, Meier P, Romero J, et al. (2011): Safety of pacemaker reuse: a meta-analysis with implications for underserved nations. Circ Arrhythm Electrophysiol. 4(3):318-323. doi:10.1161/CIRCEP.110.960112

Gakenheimer L, Lange DC, Romero J, et al. (2011): Societal views of pacemaker reutilization for those with untreated symptomatic bradycardia in underserved nations. J Interv Card Electrophysiol an Int J Arrhythm pacing. 30(3):261-266. doi:10.1007/s10840-010-9534-0

Glister J, Glister T. (2013): Property in recyclable artificial implants. J Law Med. 21(2):357-363.

Hasan R, Ghanbari H, Feldman D, et al. (2011): Safety, efficacy, and performance of implanted recycled cardiac rhythm management (CRM) devices in underprivileged patients. PACE - Pacing Clin Electrophysiol. 34(6):653-658. doi:10.1111/j.1540-8159.2011.03061.x

Kirkpatrick JN, Papini C, Baman TS, et al. (2010): Reuse of pacemakers and defibrillators in developing countries: logistical, legal, and ethical barriers and solutions. Hear Rhythm. 7(11):1623-1627. doi:10.1016/j.hrthm.2010.04.027

Logani S, Gottlieb M, Verdino RJ, Baman TS, Eagle KA, Kirkpatrick JN. (2011): Recovery of pacemakers and defibrillators for analysis and device advance directives: electrophysiologists' perspectives. Pacing Clin Electrophysiol. 34(6):659-665. doi:10.1111/j.1540-8159.2011.03032.x

Lorenzo Ruiz I. (2022): Reuse of cardiac implantable electronic devices in developing countries perspectives: A literature review. PACE - Pacing Clin Electrophysiol. 45(2):241-249. doi:10.1111/pace.14422

Lorenzo Ruiz I, Arrizabalaga Arostegi H, Fernández Atucha A. (2022): Battery life of cardiac implantable electronic devices esplanted in funeral homes: a potential resource for underserved nations. Expert Rev Med Devices. doi:10.1080/17434440.2022.2130757

Mkoko P, Bahiru E, Ajijola OA, Bonny A, Chin A. (2020): Cardiac arrhythmias in low- and middle-income countries. Cardiovasc Diagn Ther. 10(2):350-360. doi:10.21037/cdt.2019.09.21

Nava S, Morales JL, Márquez MF, et al. (2013): Reuse of pacemakers: comparison of short and long-term performance. Circulation. 127(11):1177-1183. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001584

Ochasi A, Clark P. (2015): Reuse Of Pacemakers In Ghana And Nigeria: Medical, Legal, Cultural And Ethical Perspectives. Dev World Bioeth. 15(3):125-133. doi:10.1111/dewb.12047

Project My Heart Your Heart. (2022): https://www.myheartyourheart.org/

Psaltikidis EM, Costa EAM, Graziano KU. (2021): Reuse of pacemakers and implantable cardioverter-defibrillators: systematic review, meta-analysis and quality assessment of the body of evidence. Expert Rev Med Devices. 18(6):553-567. doi:10.1080/17434440.2021.1927706

Ruiz IL, Arantzamendi LG, Mendia XM. (2022): Spanish Rhythm Association member´s perspectives on cardiac implantable electronic device reuse in low- and middle-income countries. J Interv Card Electrophysiol an Int J Arrhythm pacing. doi:10.1007/s10840-022-01304-y

Runge MW, Baman TS, Davis S, et al. (2017): Pacemaker recycling: A notion whose time has come. World J Cardiol. 9(4):296. doi:10.4330/wjc.v9.i4.296

Sinha SK, Sivasambu B, Yenokyan G, et al. (2018): Worldwide pacemaker and defibrillator reuse: Systematic review and meta-analysis of contemporary trials. PACE - Pacing Clin Electrophysiol. 41(11):1500-1507. doi:10.1111/pace.13488

Stim-develpment: Nous connaitre. (2022): https://www.stim-developpement.org/index.php/fr/nous-connaitre

Weisberg YJ, Deyoung CG, Hirsh JB. (2011): Gender Differences in Personality across the Ten Aspects of the Big Five. Front Psychol. 2:178. doi:10.3389/fpsyg.2011.00178

Wunderly K, Yousef Z, Bonny A, et al. (2018): Using reconditioned pacemakers to treat bradycardia in Africa. Nat Rev Cardiol. 15(12):725-726. doi:10.1038/s41569-018-0076-y

Yusuf S, Joseph P, Rangarajan S, et al. (2020): Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. Lancet (London, England). 395(10226):795-808. doi:10.1016/S0140-6736(19)32008-2

Zamani P, Kirkpatrick JN, Litzky LA, Verdino RJ. (2012): Longevity of implantable electrophysiology devices esplanted from patients having autopsy in hospitals. Am J Cardiol. 110(11):1643-1645. doi:10.1016/j.amjcard.2012.07.031

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau autoreak egindako “Reutilización de dispositivos cardíacos implantables en países de ingresos medios y bajos” tesi doktoraletik eratorria da. Era berean, ikerketa honetako oinarrizko datu garrantzitsuenak Heart Rhythm aldizkarian argitaratu ziren, 2023ko urtarrilean.

Narriadura kognitibo larria duten adinekoen egoeraren azterketa

Garazi Artola[1,2], Nekane Larburu[1,2]
[1]*Vicomtech Fundazioa, Basque Research and Technology Alliance (BRTA),*
[2]*Biodonostia Osasun Ikerketa Institutua (Bioingeniaritza Arloa)*
gartola@vicomtech.org

Laburpena

Okertze edo narriadura kognitiboak gero eta osasun arazo handiagoak ekartzen dizkigun garai honetan, adinekoen artean egoera kognitiboa baldintzatu dezaketen faktoreei buruzko ikerketak gero eta garrantzi handiagoa hartu dute azken urteotan. Ikerketa hauek anitzak diren arren, bertan aurki daitezkeen emaitzak eta ondorioak asko aldatzen dira batetik bestera, ziurgabetasuna sortuz. Hortaz, ikerketen ondorioak erabili edo aplikatu nahi badira, ikerketa propioak egin beharko lirateke kasu espezifiko bakoitzerako. Azterlan honen helburua Espainiako adineko pertsonen egoitza sare bateko egoiliarren narriadura kognitiboan gehien eragin dezaketen adierazleak aurkitzea da; horretarako bizitegi-historia elektronikoaren analisi estatistikoa eginez.

Hitz gakoak: Adinekoak, Narriadura Kognitiboa, Zahartze Osasungarria

Abstract

In these times in which cognitive decline is becoming a big health problem, studies on the factors that can condition the cognitive situation of our elderly are gaining importance in recent years. Although these investigations are multiple, the results and conclusions that can be found in them vary greatly from one to another, generating uncertainty. Therefore, if these studies' findings are desired to be applied, own investigations need to be carried out for each specific case. The aim of this study is to find indicators that may greatly impact the cognitive decline in the residents of a Spanish residential network, by means of statistical analysis of their electronic residential records.

Keywords: Older Adults, Cognitive Decline, Healthy Ageing

1. Sarrera eta motibazioa

Dementzia gero eta osasun-arazo handiagoa bihurtzen ari da. 50 milioi pertsona ingururi eragiten die mundu osoan, ia 10 milioi kasu berri izaten dira urtero, eta kopuru hori hirukoiztu egingo omen da 2050erako (Munduko Osasun Erakundea, 2019). Alzheimerra da dementzia motarik ohikoena eta, Espainian egindako azterketen arabera (Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2019), Alzheimerraren prebalentziak adinarekin batera gora egiten du, %1,07 ingurukoa izanik 65-69 urtekoen artean eta %39,2koa 90 urtetik gorakoen artean. Izan ere, Euskal Autonomia Erkidegoan 65 urtetik gorako pertsonen artean %10ak dementzia motaren bat du[1]. Honek, dementzia ezgaitasunen eragile nagusia eta mendekotasun maila handiena eragiten duen gaixotasuna izatearekin batera, inpaktu ekonomiko handia dakar gurera. Alzheimerra duen pertsona bat artatzeak, adibidez, urtean 31.000 euro inguruko gastua suposa diezaioke familia bati.

Testuinguru honetan, gaur egun dementzia sendatzeko tratamendurik ez dagoen arren, arrisku-faktore aldagarrien kudeaketa proaktiboak atzeratu edo mantsotu egin dezake gaixotasunaren agerpena edo progresioa (Munduko Osasun Erakundea, 2019). Beraz, narriadura kognitiborako arrisku-faktoreak ulertzea funtsezkoa da narriadura kognitiborako eta dementziarako prebentzio-estrategiak bilatzeko. Azken urteetan hainbat ikerketa egin da faktore hauen inguruan eta, arrisku-faktoreen eta narriadura kognitiboaren arteko erlazioari dagokionez oraindik ziurgabetasun handia dagoen arren, nahiko ondorio bateratuak aurki ditzakegu; hala nola, i) jarduera fisiko erregularrak eta arrisku kardiobaskularreko faktoreen kudeaketak (diabetesa, obesitatea, tabakismoa, hipertentsioa…), ii) elikadura osasungarriak, eta iii)

[1] https://www.eitb.eus/eu/eitb-taldea/eitb-maratoia/osoa/8506557/eitb-maratoia-solasean-mahaiingurua-abenduaren-9an-biocruces-ikerkuntza-institututik-alzheimerra-hizpide/

etengabeko ikaskuntza/prestakuntza eta estimulazio kognitiboak narriadura kognitiboa izateko arriskua murriztu dezaketela.

Jakintza honetan oinarriturik, DomusVi Berra (Donostia) adinekoen egoitzako arduradunek bertako egoiliarren egoera etengabe monitorizatu nahi dute, kognitiboki okerrera egin duten ahalik eta lasterren detektatu ahal izateko. Horretarako, monitorizatu beharreko parametro egokienak zein diren jakitea nahitaezkoa da. Ikerketa honen helburua, hortaz, parametro horiek aurkitzea da, egoitza honetako egoiliarren bizitegi-historia elektronikoaz baliatuz. Horretarako, narriadura kognitibo larria duten egoiliarren egoera aztertuko da bereziki, narriadura horretan eragin handiena duten adierazleak identifikatzeko asmoz.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Atal honetan, alde batetik, adinekoen narriadura kognitiboan eragin handiena duten aldagaiei buruzko ikerketaren egoera deskribatzen da, eta, bestetik, gure azterlanaren helburuak aurkezten dira.

2.1 Arloko egoera

Gaur egun, dementziarako arrisku-faktore independente nagusia adin aurreratua den arren, faktore desberdinen konbinazioa omen da narriadura kognitiboari gehien eragiten diona (Dominguez et al., 2021). Izan ere, faktore genetikoak (Chen et al., 2009), psikologikoak (Wuthrich et al., 2019), klinikoak (kardiobaskularrak gehienbat) (Lourenco et al., 2018), soziodemografikoak, sozioekonomikoak eta ingurumenekoak (Clarke et al., 2015; Xu et al., 2016), nutrizioa (Dominguez et al., 2021), loaren kalitatea (Spira et al., 2014) eta jarduera fisikoa (Brasure et al., 2018), besteak beste, faktore determinatzaile gisa ezagutzen ditugu. Faktore hauek adinekoen egoitzetan jasotzen diren historia elektroniko ohikoenetako datuekin alderatzen hasiz gero, faktore klinikoak (murriztuak), nutrizionalak eta soziodemografikoak soilik aurkituko ditugu. Hauetaz gain, egoitzetako informazio espezifikoa ere gordetzen da historia horietan; hala nola, estantzia mota, sarrera-zergatia, zerbitzu mota edo estantziaren iraupena.

Bada datu hauetan oinarriturik narriadura kognitiboa egoitzetan dauden adinekoen egoerarekin konparatu duen ikerketarik. Burton et al. (1992) autoreek, adibidez, kognizio maila baxuarekin lotu zituzten egoiliarren egokitzeko jarrera eskasa eta denbora luzeko estantziak; eta babes sozial handia izatea, aldiz, kognizio maila hobearekin. Azken emaitza honekin bat datoz hogeita bi urtez jarraipena eman zieten 65 urtez gorako populazioan oinarritutako azterketako ikerlariak (González-Colaço et al., 2014). Azterlan honen arabera, instituzionalizatutako adineko pertsonek komunitatean daudenek baino narriadura kognitibo handiagoa izan ohi dute. Ondorio berdintsuak atera zituen Leiva-Saldaña et al. (2016) ikerlari taldeak, instituzionalizazioa eta adina narriaduran kognitiboarekin negatiboki lotuz.

Datu klinikoagoetan sartuz, egoiliarrak sujetu izan ziren beste ikerketa batean (Wysocki et al., 2012) hipertentsioa zuten pertsonek narriadura kognitiborako arrisku handiagoa zutela ondorioztatu zuten. Cervantes (1989) autoreak, bestetik, dementziaren larriagotzean eragin handiena duen faktorea oheratze luzeak dituzten gaixotasun larriak direla aurkeztu zuen bere tesian; esanguratsuak izanik, baita ere, mugiezintasuna eragiten duten faktoreak eta egoitzaren barruko kokaleku-aldaketak. Aldiz, Gonzalez et al. (2001) autoreen ikerketan prozesu kronikoen kopurua ez zegoela narriadura kognitibo handiagoarekin lotuta erakutsi zuten, bai ordea ikasketa-maila; hau da, hezkuntza-mailak adinekoen kognizioan eragina duela, osasun egoera edozein dela ere.

Nabari denez, testuinguru honetan hainbat ikerketa egin diren arren, oraindik ziurgabetasunez beteriko arloa dugu narriadura kognitiboarena eta bere adierazleena zahartzaroan. Ikerketa gehiagoren beharra erakusten du honek, bai luzetarakoak (azterketa longitudinalak), bai populazioan oinarritutako kohorte-azterketak, bai faktore aldagarriak jorratzen dituzten esku-hartze espezifikoen eraginkortasunari buruzko ausazko saiakuntza kontrolatuak.

2.2 Helburuak

Ikerketa honen helburu nagusia adineko pertsonen narriadura kognitiboan gehien eragin dezaketen adierazleak aurkitzea da, narriadura larria duten adinekoen egoera bereziki aztertuz. Horretarako, helburu espezifiko hauek definitu dira:

1) Egoitza bateko adinekoen datuen analisi estatistikoa burutzea.
2) Egoiliar horien egoera kognitiboa aztertzea.
3) Narriadura kognitibo larria duten gizon eta emakume egoiliarren parametroak aztertzea.

3. Ikerketaren muina

Analisi estatistikoa erabili da Espainia osoko DomusVi egoitzetako historia elektronikoa aztertzeko. Analisi hau burutzeko, RStudio programa irekiaz baliatu gara, guk garatutako kodea erabiliz, datuen aurreprozesamendua egin eta datuak estatistikoki aztertzeko. Aldagaiak elkarren artean konparatzeko eta korrelazioak lortzeko, bi aldagai kategorikoren kasurako, Pearsonen Khi-karratu testa erabili da eta, aldagai kategoriko baten eta numeriko baten kasurako, berriz, bariantza-analisia. Bi kasuetan korrelazio koefizienteak lortu dira emaitza gisa.

3.1 Narriadura kognitiboaren miaketa

Pertsona baten egoera kognitiboa ebaluatzeko hainbat eskala, galdetegi, proba edota test desberdin daude gaur egun. Horietatik DomusVi egoitzetako egoiliarren jarraipena egiteko erabiltzen direnak Barthel Indizea, Narriadura Globalaren eta Mini-Mental Testa dira.

Barthel indizeak pertsona batek eguneroko bizitzako oinarrizko hamar jarduera egiteko duen gaitasuna neurtzen du, bere mendekotasun-maila zehazteko balio kuantitatibo bat lortuz (Cid-Ruzafa eta Damián-Moreno, 1997). Reisbergen Narriadura Globalaren Eskalak (ingelesezko Global Deterioration Scale (GDS)), berriz, pertsona baten maila kognitiboa, fisikoa eta jokaerazkoa baloratzen du, horrela, zazpi mailatan desberdindutako dementzia maila zehaztuz (Reisberg et al., 1982). Azkenik, Mini-Mental State Examination (MMSE) azterketak (Folstein et al., 1975) hainbat galdera eta ebaluatutako pertsonak egin beharreko ekintzak biltzen ditu, pertsona horren egoera kognitiboaren baheketa-balorazioa balio numeriko baten bidez lortzeko.

Hiru eskala hauetatik, aztertu beharreko datu-baseko subjektuen narriadura kognitibo maila zehazteko aldagai eta aztergai nagusi moduan MMSE emaitza aukeratu da. Izan ere, azterketa hau adinekoen okertze kognitiboaren iragarle sendoa dela frogatu izan da (Guerrero-Berroa et al., 2009). Ondorioz, historia elektronikoan jasotako beste bi galdetegiak baztertu egin dira ikerketa honetarako. MMSE azterketaren emaitza numerikoa izan arren (30 puntu lor daitezke gehienez), bere baliokide kategorikoa erabili dugu: >24 puntu = narriadura kognitiborik ez, 10-24 artean = narriadura kognitibo arina/moderatua eta <10 puntu = narriadura kognitibo larria.

3.2 Datu-basea eta datuen aurreprozesamendua

Aztertutako egoiliarren bizitegi-historia elektronikoan 5087 adineko (%61.8 emakumezkoak) eta 43 aldagai desberdin aurki daitezke, datu soziodemografikoak, klinikoak, nutrizionalak eta egoitzak berak harturiko datu espezifikoak biltzen dituztenak. Aldagai horietako 20 egoiliarren gaixotasun edo diagnostiko sekundarioen deskribapenak dira eta, analisi estatistiko honetarako diagnostiko nagusiaren deskribapena soilik hartzea erabaki denez, 20 aldagai hauek *Diagnostiko kopurua* deituriko aldagaia sortzeko erabili dira, ondoren ezabatuz. Datuen aurreprozesamenduaren hurrengo pausoa bikoizturiko aldagaiak (zutabeak) eta egoiliarrak (lerroak) ezabatzea izan da. Amaitzeko, aldagaien artean gure aztergai nagusia (besteak honekiko konparatuko direna) zein izango den erabaki dugu (ikus 3.2 atala). Prozesu honen ostean lortutako amaierako datu-basearen informazioa 1. taulan aurkezten da, aldagai bakoitzerako deskribapen labur bat, bere unitatea edo balio posibleak eta 5087 datuetatik eskuragarri ez dauden edo falta diren (ingeleseko Not Available, NA) datu kopurua adieraziz.

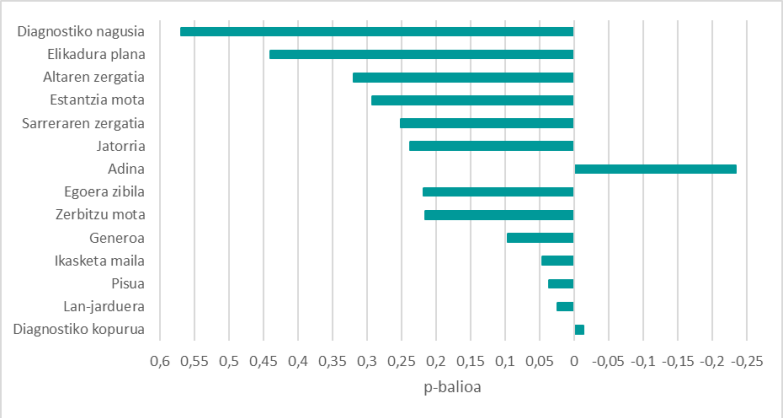
1. taula. Datu-basearen aldagaien laburpena aurreprozesamenduaren ondoren.

Aldagaia	Deskribapen laburra	Unitatea / Balio posibleak	NA
Generoa	Egoiliar bakoitzaren generoa adierazten du	Gizonezkoa edo Emakumezkoa	0
Adina	Jaiotza-datatik kalkulatua	Zenbaki osoa (urteak)	0
Zerbitzu mota	Zein zerbitzu mota ematen dion egoitzak egoiliarrari	6 balio guztira (Eguneko zentroa, Egoiliarra, Osasun mentala…)	0
Estantzia mota	Egoiliarrak egoitzan zertarako edo zertan dauden adierazten du	17 balio (Eguneko zentroa, Estantzia luzea, Psikiatria unitatea…)	67
Altaren zergatia	Alta hartu dutenen edo egoitza uztearen arrazoia	20 balio (Heriotza, Plaza publikora, Etxera…)	1017
Jatorria	Egungo egoitzara etorri aurretik non zeuden adierazten du	11 balio (1. mailako arreta zentroa, Etxea, Egoitza soziala…)	49
Sarreraren zergatia	Egoitzara sartzearen arrazoia	17 balio (Familiaren karga gutxitzea, Errehabilitazioa, Boluntarioa…)	49
Egoera zibila	Egoiliarren egoera zibila	6 balio (Ezkondua, Ezkongabea…)	210
Ikasketa maila	Egoiliarren ikasketa maila	11 balio (Ikasketarik gabea, lehen ikasketak, unibertsitatekoak…)	983
Lan-jarduera	Zein lanetan aritu izan diren	17 balio (Etxeko lanak, Eskulangile…)	985
Diagnostiko nagusia	Egoiliar bakoitzaren gaixotasun edo diagnostiko printzipala	648 balio (Dementzia, Diabetea, Parkinsona…)	404
Diagnostiko kopurua	Zenbat diagnostiko dituen egoiliar bakoitzak	Zenbaki osoa	508
Pisua	Egoiliarren pisua kg-tan	Zenbaki hamartarra	1275
Elikadura plana	Egoitzan bertan zein menu mota eman behar zaien adierazten du	164 balio (Normala, Diabetikoa, Hiposodikoa…)	470
MMSE emaitza	Narriadura kognitibo maila adierazten du (aztergai nagusia)	Narriadura kognitiborik ez, NK arina/moderatua, NK larria	809

3.3 Analisi estatistikoaren emaitzak

Analisiaren lehenengo pausoa MMSE azterketaren emaitzen (gure aztergai nagusiaren) eta egoiliarren gainontzeko aldagaien arteko eta aldagai horien arteko korrelazioak analizatzea izan da, bakoitzerako lorturiko koefizienteak aztertuz. MMSE emaitzarekiko analisian, aldagaiak esanguratsuenetik esangura gutxienekora ordenatu ditugu, 1. irudian ikus daitekeen moduan.

1. irudia. Aldagaien eragina (Pearsonen korrelazio koefizienteak erabiliz) MMSE emaitzarekiko



Ikerketa honetarako korrelazio koefizientea >0.6 denean korrelazio sendoa dela zehaztu denez, estatistikoki ez da esangura sendoa adierazten duen aldagairik aurkitu. Hala ere, diagnostiko nagusiak, elikadura planak eta altaren zergatiak korrelazio ertaina (koefizientea 0.3-0.6 artean) erakutsi dute, hurrenez hurren. Aldagai guztien arteko korrelazioen koefizienteak A Eranskineko korrelazio matrizean aurki daitezke. Esangura-maila bera erabiliz, adinaren eta estantzia motaren, zerbitzu motaren eta diagnostiko nagusiaren arteko, eta estantzia motaren eta zerbitzu motaren arteko erlazioak azpimarra daitezke (korrelazio sendoa dute).

Hurrengo pausoa aztergai nagusiaren hiru aukera desberdinetarako (narriadura kognitiborik ez, narriadura kognitibo arina/moderatua eta narriadura kognitibo larria) egoiliarren gainontzeko aldagaien balioak aztertzea izan da. Horretarako, 2. taulan hurrengoa aurkezten da: i) aldagai numerikoen kasuan, aldagai bakoitzerako batezbestekoa eta desbideratze estandarra hiru narriadura mailetarako; eta, ii) aldagai faktorialen kasuan, aldiz, balio adierazgarrienen ehunekoak hiru aukera desberdinetarako, gainontzeko balioak edo eskuragarri ez dauden balioak *Bestelakoak/NA* multzoan sartu direlarik. Azterketa honen emaitzen interpretazioa errazteko asmoz, narriadurak okerrera egin ahala ehunekoen edo batezbestekoen gorako edota beherako joera duten aldagaiak letra lodiz adierazi dira. Ikus daitekeenez, i) adina, ii) estantzia psikiatrikoa, susperraldikoa edo estantzia luzea, iii) elikadura plan arrunta, hiperkalorikoa, birrindua, biguna edo osagarriekin, iv) jatorriaren ia aukera guztiak, v) egoiliarra edo osasun mentaleko zerbitzukoa izatea, vi) etxera edo plaza publikora joatea edo heriotza, vii) pisua, viii) familia falta, errehabilitazioa, Eguneroko Bizitzako Jarduerak (EBJk) egiteko zailtasuna, etxean tratatzen jarraitzeko zailtasuna edo sarrera boluntarioa, ix) egoera zibil ia denak, x) nerabezaroko ikasketa maila, xi) dementzia, Alzheimerra, depresioa, fibrilazio aurikularra edo gaixotasun zerebrobaskularra izatea, xii) generoa, eta xiii) zerbitzuetako langilea, profesional liberala edo zentro okupazionalean egon izana dira aldagai horiek.

2. taula. Egoiliarren aldagaien balioak narriadura kognitibo maila desberdinetarako (MMSE puntuazioan oinarrituz).

Aldagaia		NK ez	NK arina/moderatua	NK larria
Guztira		%19.3 (n=983)	%42.4 (n=2157)	%22.4 (n=1138)
Adina (batezb. + desb. estandarra urtetan)		80.4 ±18.0	89.8 ±10.7	90.1 ±9.6
Estantzia mota	Eguneko zentroa	%9.8	%17.4	%13.1
	Psikiatria	%13.3	%1.9	%0.6
	Susperraldia	%8.9	%3.5	%1.4
	Estantzia luzea	%52.6	%65.0	%73.3
	Desgaitu unitatea	%3.0	%1.1	%0.8
	Arnasketa unitatea	%11.8	%9.4	%8.2
	Bestelakoak/NA	%0.6	%1.7	%2.6
Elikadura plana	**Normala**	%32.9	%25.1	%15.6
	Diabetikoa	%17.1	%22.0	%17.7
	Hiposodikoa	%7.6	%9.3	%4.4
	Hiperkalorikoa	%6.4	%1.4	%0.3
	Birrindua (normala)	%4.7	%12.7	%23.3
	Biguna (normala)	%3.7	%5.7	%6.8
	Osagarriekin	%3.6	%4.3	%8.2
	Bestelakoak/NA	%24.0	%19.5	%23.7
Jatorria	1. mailako arreta zentroa	%20.8	%24.9	%19.2
	Osasun mentaleko anbulatorioa	%10.5	%1.4	%0.5
	Ospitalea / osasun zentroa	%33.5	%24.9	%23.4
	Eguneko zentroa	%1.5	%1.2	%0.8
	Etxea	%12.5	%18.5	%25.5
	Egoitza soziala	%20.9	%28.8	%30.6
	Bestelakoak/NA	%0.3	%0.3	%0

Zerbitzu mota	Eguneko zentroa	%10.3	%17.9	%13.8
	Egoiliarra	%76.2	%80.1	%84.6
	Osasun mentala	%13.3	%1.9	%0.6
	Bestelakoak/NA	%0.2	%0.1	%1.0
Altaren zergatia	**Etxera**	%19.1	%10.5	%6.7
	Plaza publikora	%3.8	%4.9	%2.3
	Boluntarioa	%9.2	%10.5	%8.2
	Egoitza sozialera	%11.4	%13.2	%12.9
	Osasun zentrora / Ospitalera bideratzea	%2.6	%3.5	%3.3
	Heriotza	%17.4	%31.2	%42.5
	Estantzia amaiera	%9.4	%1.8	%0.5
	Bestelakoak/NA	%27.1	%24.4	%23.6
Pisua (batezb. + desb. estandarra kg-tan)		69.5 ±16.6	62.8 ±15.0	58.1 ±14.6
Sarreraren zergatia	Diputazioa / Udaletxea / Judiziala	%7.8	%5.8	%8.8
	Familia falta / ukatzea	%6.2	%8.3	%10.5
	Errehabilitazioa	%5.0	%0.9	%0.4
	Familiaren karga gutxitzea	%20.5	%28.9	%24.8
	EBJk egiteko zailtasuna	%33.0	%39.3	%44.2
	Etxean tratatzen jarraitzeko zailt.	%18.8	%11.2	%5.6
	Boluntarioa	%2.4	%1.7	%1.3
	Bestelakoak/NA	%6.3	%3.9	%4.4
Egoera zibila	**Ezkondua**	%16.6	%22.8	%30.4
	Dibortziatua	%4.6	%2.3	%1.3
	Bikotekidea	%1.2	%0.4	%0.5
	Banandua	%3.3	%1.6	%1.0
	Ezkongabea	%32.3	%15.7	%13.0
	Alarguna	%40.0	%54.8	%50.9
	Bestelakoak/NA	%2.0	%2.4	%2.9
Ikasketa maila	Ez irakurri ez idatzi	%18.0	%15.9	%16.0
	Ikasketarik gabea	%12.3	%18.5	%17.1
	Lehen ikasketak	%38.0	%40.9	%39.7
	DBH edo antzekoa	%5.6	%3.1	%1.6
	FP edo antzekoa	%4.5	%1.7	%0.7
	BUP edo COU	%3.8	%1.7	%1.1
	Unibertsitateko ikasketak	%5.1	%1.7	%2.7
	Bestelakoak/NA	%12.7	%16.5	%21.1
Diagnostiko nagusia	**Dementzia**	%6.2	%24.7	%42.7
	Hipertentsioa	%12.5	%12.8	%9.4
	Alzheimerra	%0.2	%3.1	%8.0
	Diabetea	%6.2	%8.0	%5.4
	Depresioa	%4.2	%2.4	%1.5
	Parkinsona	%1.7	%2.5	%2.4
	Fibrilazio aurikularra	%3.0	%2.2	%1.8
	Gaixotasun zerebrobaskularra	%1.4	%3.9	%5.2
	Bestelakoak/NA	%61.6	%40.4	%23.6
Generoa (emakumezkoen %)		%53.9	%66.1	%66.3
Diagnostiko kopurua (batezb. + desb. estandarra)		4.7 ±2.7	5.3 ±2.8	4.9 ±2.5
Lan-jarduera	Etxeko lanak	%46.2	%49.6	%46.3
	Enpresarioa / autonomoa	%2.2	%2.3	%1.9
	Profesional liberala	%2.1	%1.6	%1.0
	Eskulangilea	%12.7	%11.8	%12.6
	Zerbitzuetako langilea	%7.4	%5.3	%4.4
	Zentro okupazionala	%4.8	%4.4	%4.3
	Bestelakoak/NA	%24.6	%25.0	%29.5

4. Ondorioak

Esku artean eduki dugun egoiliarren historia elektronikoaren analisi estatistiko honek adinekoen narriadura kognitiboan gehien eragin dezaketen adierazleak identifikatzea ahalbidetu digu. Adierazle horien artean eragin handiena duena diagnostiko nagusia da, korrelazio ertaina erakutsi duen arren. Izan ere, aldagai honek bat egiten du MMSE puntuazio baxueneko taldearekin, dementzia eta Alzheimerra gaixotasunen ehunekoen gorakada argiak erakusten duenez. Bestetik, fibrilazio aurikularrak kognizioan negatiboki eragiten ez duela ematen du, bai ordea gaixotasun zerebrobaskularrek. Hala ere, ezin dugu aldagai honen eta adinaren arteko korrelazio sendoa ahaztu, adinean aurrera egin ahala narriadura kognitibo larria edukitzeko aukera gehiago daudela ondoriozta dezakegularik (korrelazio negatiboa). Diagnostiko nagusiaren ondoren, MMSE emaitzarekiko korrelazio ertaina erakutsi duten elikadura plana eta altaren zergatia ditugu. Elikadura plana nolabaiteko narriadura kognitiboaren adierazle moduan har genezakeen arren, okertze horren kausa izan daitekeela uste dugu, altaren zergatiarekin gertatzen den moduan. Elikadura planaren kasuan, okertze kognitiboak janari bigunak eta birrindutakoak jatera bultzatzen gaituela esan dezakegu, baita elikadura-osagarriak erabiltzera ere. Altaren zergatian, aldiz, argi ikus daiteke narriadurak okerrera egin ahala heriotzaren ehunekoak gora egiten duela. Bide beretik doaz estantzia eta zerbitzu motaren aldagaiak ere, narriadura larritzen doan heinean egoiliarren eta estantzia luzeko adinekoen kopuruak gora egiten duelarik, bi aldagai hauen arteko korrelazio sendoaren adierazle. Hala ere, bi aldagai hauen okertze kognitiboarekiko ustezko eragina adinarekin duten korrelazio sendoak baztertu dezake. Egoitzara sartzeko arrazoien artean, EBJk egiteko zailtasuna da zergati nagusia narriadura kasu guztietarako, ehuneko handienean narriadura larrian izanik. Larritasun honek boluntarioki sartzeko gaitasuna gutxitzen duela ere ondoriozta dezakegu; baita familia faltak edo familiaren ukapenak okertze kognitiboan eragin dezakeela ere. Egoitzara sartu aurreko adineko hauen jatorriari dagokionez, egoitza sozialetatik eta etxetik etorritakoak gehiago dira narriadura larria duten adinekoen artean. Azkenik, generoari erreparatzen badiogu, emakumezkoa izateak narriaduran negatiboki eragin dezakeela pentsa dezakegu, baina emaitza hau adinarekin loturik egon daiteke, zaharragoak diren egoiliarren artean emakumezkoak direnen ehunekoak gora egiten baitu. Era berean, gainontzeko aldagaiek narriaduran duten ustezko eragina ere adinaren menpeko edo kausa direla uste dugu. Pisuaren kasuan, adibidez, MMSE maila bakoitzerako batezbestekoak nabarmen egiten du behera, narriadurarik ez dutenen eta narriadura larria dutenen artean 10 kg baino gehiagoko aldea aurkituz. Baina, esan bezala, hau generoarekin loturik egon daiteke, emakumezkoen batezbesteko pisua baxuagoa delarik. Nolanahi ere, batezbesteko balioek joera bat adieraz dezaketen arren, balio oso altu edo baxuekin eduki dezaketen eragina dela eta, ezin dira ondorio definitiboak ateratzeko erabili.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Egindako azterketa honetatik abiatuz, gure ikertzaile taldearen hurrengo erronka narriadura kognitibo maila edo narriadura arriskua modu eraginkorrean eta zehaztasun maila onargarri batean iragarri dezakeen adimen artifizialean oinarritutako eredu bat garatzea da.

6. Erreferentziak

Brasure, M., Desai, P., Davila, H., Nelson, V.A., Calvert, C., Jutkowitz, E., Butler, M., Fink, H.A., Ratner, E., Hemmy, L.S., McCarten, J.R., Barclay, T.R. eta Kane, R.L. (2018). Physical Activity Interventions in Preventing Cognitive Decline and Alzheimer-Type Dementia. *Annals of Internal Medicine*, 168 (1), 30–38. https://doi.org/10.7326/M17-1528

Burton, L.C., German, P.S., Rovner, B.W. eta Brant, L.J. (1992). Physical Restraint Use and Cognitive Decline among Nursing Home Residents. *Journal of the American Geriatrics Society*, 40 (8), 811–816. https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1992.tb01854.x

Cervantes, M.F.I. (1989). *Factores evolutivos de la demencia senil en una residencia asistida*. (http://purl.org/dc/dcmitype/Text). Universidad de Navarra.

Chen, J.-H., Lin, K.-P. eta Chen, Y.-C. (2009). Risk Factors for Dementia. *Journal of the Formosan Medical Association*, 108 (10), 754–764. https://doi.org/10.1016/S0929-6646(09)60402-2

Cid-Ruzafa, J. eta Damián-Moreno, J. (1997). Valoración de la discapacidad física: el indice de Barthel. *Revista Española de Salud Pública*, 71 (2), 127–137

Clarke, P.J., Weuve, J., Barnes, L., Evans, D.A. eta Mendes de Leon, C.F. (2015). Cognitive decline and the neighborhood environment. *Annals of Epidemiology*, 25 (11), 849–854. https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2015.07.001

Dominguez, L.J., Veronese, N., Vernuccio, L., Catanese, G., Inzerillo, F., Salemi, G. eta Barbagallo, M. (2021). Nutrition, Physical Activity, and Other Lifestyle Factors in the Prevention of Cognitive Decline and Dementia. *Nutrients*, 13 (11), 4080. https://doi.org/10.3390/nu13114080

Folstein, M.F., Folstein, S.E. eta McHugh, P.R. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12 (3), 189–198. https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6

González, R., Zapata, J.A., Pérez, J.C., Hormigo, A., Guerrero, R.D. eta Baca, A. (2001). Estudio del déficit cognitivo en pacientes ingresados en una residencia geriátrica. 38, 792–796

González-Colaço, M., Meillon, C., Rullier, L., Avila-Funes, J.-A., Bergua, V., Dartigues, J.-F. eta Amieva, H. (2014). Cognitive Decline After Entering a Nursing Home: A 22-Year Follow-Up Study of Institutionalized and Noninstitutionalized Elderly People. *Journal of the American Medical Directors Association*, 15 (7), 504–508. https://doi.org/10.1016/j.jamda.2014.02.006

Guerrero-Berroa, E., Luo, X., Schmeidler, J., Rapp, M.A., Dahlman, K., Grossman, H.T., Haroutunian, V. eta Beeri, M.S. (2009). The MMSE orientation for time domain is a strong predictor of subsequent cognitive decline in the elderly. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 24 (12), 1429–1437. https://doi.org/10.1002/gps.2282

Leiva-Saldaña, A., Sánchez-Ramos, J.L., León-Jariego, J.C. eta Palacios-Gómez, L. (2016). Factores predictores de deterioro cognitivo en población mayor de 64 años institucionalizada y no institucionalizada. *Enfermería Clínica*, 26 (2), 129–136. https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2015.09.006

Lourenco, J., Serrano, A., Santos-Silva, A., Gomes, M., Afonso, C., Freitas, P., Paul, C. eta Costa, E. (2018). Cardiovascular Risk Factors Are Correlated with Low Cognitive Function among Older Adults Across Europe Based on The SHARE Database. *Aging and Disease*, 9 (1), 90–101. https://doi.org/10.14336/AD.2017.0128

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social (2019). *Plan integral de Alzheimer y otras demencias (2019-2023)*. Madril.

Munduko Osasun Erakundea (2019). *Narriadura kognitibo eta dementzian arriskua murrizteko MOEren gida*. Geneva: World Health Organization.

Reisberg, B., Ferris, S.H., de Leon, M.J. eta Crook, T. (1982). The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *The American Journal of Psychiatry*, 139, 1136–1139. https://doi.org/10.1176/ajp.139.9.1136

Spira, A.P., Chen-Edinboro, L.P., Wu, M.N. eta Yaffe, K. (2014). Impact of Sleep on the Risk of Cognitive Decline and Dementia. *Current opinion in psychiatry*, 27 (6), 478–483. https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000106

Wuthrich, V.M., Rapee, R.M., Draper, B., Brodaty, H., Low, L.-F. eta Naismith, S.L. (2019). Reducing risk factors for cognitive decline through psychological interventions: a pilot randomized controlled trial. *International Psychogeriatrics*, 31 (7), 1015–1025. https://doi.org/10.1017/S1041610218001485

Wysocki, M., Luo, X., Schmeidler, J., Dahlman, K., Lesser, G.T., Grossman, H., Haroutunian, V. eta Beeri, M.S. (2012). Hypertension is Associated With Cognitive Decline in Elderly People at High Risk for Dementia. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 20 (2), 179–187. https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e31820ee833

Xu, W., Tan, L., Wang, H.-F., Tan, M.-S., Tan, L., Li, J.-Q., Zhao, Q.-F. eta Yu, J.-T. (2016). Education and Risk of Dementia: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Molecular Neurobiology*, 53 (5), 3113–3123. https://doi.org/10.1007/s12035-015-9211-5

7. Eskerrak eta oharrak

Azterlan honen euskarri ekonomikoetako bat ZL-2022/00475 dirulaguntza izan da, OROIPEN izenekoa eta Eusko Jaurlaritzaren eta Europar Batasunaren eskutik jasotakoa, Eskualde Garapenerako Europako Funtsaren (EGEF) babesean. Bestetik, Gipuzkoako Foru Aldundiaren eskutik, Gipuzkoako Zientzia, Teknologia eta Berrikuntza Sarea Programako Gipuzkoa Next proiektuen barruan dagoen 2022-CIEN-000074-01 dirulaguntza ere euskarri izan da, OHARTU izenpean. Azkenik, esker bereziak eman nahi zaizkie DomusVi Berrikuntza Saileko arduradunari, datuak erabiltzen uzteagatik, eta DomusVi Berra zentroko zuzendariari eta bertako mediku zein erizainei, datuei buruzko gure zalantzak eta galderak argitzeagatik.

Eranskinak

A Eranskina – Korrelazio matrizea (korrelazio koefizienteak)

	Generoa	Estantzia mota	Jatorria	Altaren zergatia	Egoera zibila	Sarreraren zergatia	Ikasketa maila	Zerbitzu mota	Lan-jarduera	MMSE	Diagnostiko nagusia	Pisua	Adina	Diagnostiko kopurua	Elikadura plana
Generoa	1	0,175914279	0,13706721	0,138727594	0,395432988	0,163883416	0,065302682	0,173014474	0,261409251	0,096365493	0,447884715	0,024794877	0,253085684	0,032698837	0,186445034
Estantzia mota	0,175914279	1	0,274642946	0,301391651	0,207898223	0,266224055	0,123378093	**0,856395224**	0,153216631	0,292788831	0,429516079	0,033097772	**0,649318427**	0,345649765	0,218794906
Jatorria	0,13706721	0,274642946	1	0,238083979	0,140789346	0,275662727	0,165908339	0,34416336	0,162100797	0,237601851	0,448770871	0,035377475	0,511797255	0,329147267	0,239695915
Altaren zergatia	0,138727594	0,301391651	0,238083979	1	0,171486688	0,211369218	0,194569244	0,406326692	0,118220057	0,319010163	0,408503332	0,066500771	0,562141327	0,305231919	0,311243733
Egoera zibila	0,395432988	0,207898223	0,140789346	0,171486688	1	0,166131438	0,078795177	0,231237287	0,19867396	0,217586022	0,449492606	0,043059791	0,531158345	0,184034587	0,196197409
Sarreraren zergatia	0,163883416	0,266224055	0,275662727	0,211369218	0,166131438	1	0,201824016	0,399757216	0,2058008	0,250347185	0,533076667	0,033014822	0,490468371	0,275147055	0,209674164
Ikasketa maila	0,065302682	0,123378093	0,165908339	0,194569244	0,078795177	0,201824016	1	0,022916156	0,451170742	0,046321573	0,423824203	-0,007627846	-0,030901885	0,045443875	0,186848958
Zerbitzu mota	0,173014474	**0,856395224**	0,34416336	0,406326692	0,231237287	0,399757216	0,022916156	1	0,033702029	0,215780606	0,439194669	0,029858291	**0,64404065**	0,340366974	0,292509221
Lan-jarduera	0,261409251	0,153216631	0,162100797	0,118220057	0,19867396	0,2058008	0,451170742	0,033702029	1	0,023839011	0,429861421	-0,005683143	-0,121576629	0,029679032	0,222296499
MMSE	0,096365493	0,292788831	0,237601851	0,319010163	0,217586022	0,250347185	0,046321573	0,215780606	0,023839011	1	0,568619696	0,036798451	-0,234166373	-0,014102776	0,439876645
Diagnostiko nagusia	0,447884715	0,429516079	0,448770871	0,408503332	0,449492606	0,533076667	0,423824203	0,439194669	0,429861421	0,568619696	1	0,0687915	**0,757111343**	0,516863024	0,372327226
Pisua	0,024794877	0,033097772	0,035377475	0,066500771	0,043059791	0,033014822	-0,007627846	0,029858291	-0,005683143	0,036798451	0,0687915	1	-0,046695665	-0,016583061	0,105840461
Adina	0,253085684	**0,649318427**	0,511797255	0,562141327	0,531158345	0,490468371	-0,030901885	**0,64404065**	-0,121576629	-0,234166373	**0,757111343**	-0,046695665	1	0,280498509	0,457370293
Diagnostiko kopurua	0,032698837	0,345649765	0,329147267	0,305231919	0,184034587	0,275147055	0,045443875	0,340366974	0,029679032	-0,014102776	0,516863024	-0,016583061	0,280498509	1	0,291292639
Elikadura plana	0,186445034	0,218794906	0,239695915	0,311243733	0,196197409	0,209674164	0,186848958	0,292509221	0,222296499	0,439876645	0,372327226	0,105840461	0,457370293	0,291292639	1

GRM2 eta GRM3 geneen adierazpenaren ebaluazioa subjektu eskizofrenikoen postmortem garuneko kortex aurrefrontalean

Jon Ander Santas[1], Alfredo Ramos[1,2], Luis Felipe Callado[1,2,3], Jose Javier Meana[1,2,3], Guadalupe Rivero[1,2,3]

[1]Farmakologia saila, Medikuntza eta Erizaintza fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa; [2]Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM); [3]Biocruces Bizkaia Osasun Ikerketa Institutua.

jsantas001@ikasle.ehu.eus

Laburpena

mGluR2/3ren farmako aktibatzaileak eskizofreniaren disfuntzio glutamatergikoa tratatzeko saiatu dira eraginkortasun eskasarekin, baliteke klozapinak edo beste antipsikotikok eragindako mGluR2ren murrizketagatik. mGluR2/3 kodetzen duten GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena qPCRz neurtu zen postmortem garuneko kortex aurrefrontalean. Tratamendu antipsikotikoaren, eta bereziki klozapinaren, eragina ebaluatu zen, tratatu eta ez-tratatutako subjektu eskizofrenikoetan. GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasunik aurkitu subjektu eskizofrenikoen eta kontrolen artean. Klozapinak ez zuen GRM2/3 gene-adierazpena esanguratsuki modulatu beste antipsikotikoekin konparatuz. GRM2ren transkripzio murriztuak ez du mGluR2ren dentsitate murriztua azaltzen.

Hitz-gakoak: Eskizofrenia, GRM2, GRM3, qPCR, kortex aurrefrontala, klozapina

Abstract

mGluR2/3 activating drugs have been tested to treat glutamatergic dysfunction in schizophrenia with poor efficacy, possibly due to mGluR2 depletion caused by clozapine or other antipsychotics. Gene expression of GRM2 and GRM3, which encode mGluR2/3, was measured by qPCR in postmortem brain prefrontal cortex. The effect of antipsychotic treatment, and specially clozapine, was evaluated in schizophrenic subjects treated or not-treated with these drugs. No differences were found in the gene expression of GRM2 and GRM3 between schizophrenic and control subjects. Clozapine did not significantly modulate GRM2/3 gene expression compared to other antipsychotics. Reduced transcription of GRM2 does not explain reduced mGluR2 receptor density.

Keywords: Schizophrenia, GRM2, GRM3, qPCR, prefrontal cortex, clozapine

1. Sarrera eta motibazioa

Eskizofrenia portaera-sindrome kognitibo konplexua da, bizitza osoan %0,7ko prebalentzia duena (Howes et al., 2015). Bere etiologian faktore genetikoek eta ingurumen-faktoreek sustatutako garunaren garapenaren nahasmenduak parte hartzen duela proposatu da (Owen et al., 2016). Eskizofreniak hainbat baldintza kliniko heterogeneo biltzen ditu, bi ezaugarri komunekin: psikosia eta gainbehera sozio-laborala. Psikosiaren sintomak sintoma positibo gisa bildu dira, eta gainbehera soziolaboralaren oinarrian dauden adierazpen psikopatologikoak sintoma negatibo gisa bildu dira (de Oliveira-Souza et al., 2007). Sintoma positiboen artean eldarnioak, aluzinazioak (entzumenezkoak batez ere, baina beste zentzumen batzuk ere inplikatuta egon daitezke kasu batzuetan) eta pentsamendu eta hizkera desantolatuak aurki daitezke. Sintoma positiboek berriro hasteko eta arintzeko joera dute, nahiz eta paziente batzuek epe luzerako hondar sintoma psikotikoak izan. Psikosiaren estreinaldia nerabezaroaren amaieran edo helduaroaren hasieran gertatzen da normalean, eta sarritan fase prodromiko bat aurretik gertatzen da (Owen et al., 2016). Sintoma negatiboei dagokienez, bost domeinu onartu dira,

pentsamendu prozesu edo erantzun emozional eskasiei dagozkienak: anhedonia (plazerra sentitzeko gaitasun eza), asozialtasuna (gizarte-harremanetan aritzeko gogorik eza), abolizioa (motibazio eza), afektu moteldua (ahozko edo hitzik gabeko erakustaldi emozional murriztua) eta alogia (hizketa-pobrezia) (Uno eta Coyle, 2019). Azkenik, sintoma kognitiboak eskizofreniaren ezaugarri nagusi bat dira, eta azaleratzen diren sintoma goiztiarrenak izan ohi dira. Horrelako sintomak eskizofreniaren agerpena baino lehen agertu ohi dira, fase prodromikoan, batzuetan nerabezaroan edo haurtzaroan ere. Subjektu eskizofrenikoek normalean urritasun nabarmenak erakusten dituzte, epe luzerako memorian eta prozesatzeko abiaduran (neurokognizioa), eta emozioen prozesamenduan eta pertzepzio sozialan (kognizio soziala), besteak beste (Green et al., 2019).

Antipsikotikoek (AP) farmako psikotropikoen azpimultzo bat osatzen dute, psikosiaren tratamendurako erabiltzen direnak. Eskizofrenia eta beste gaixotasun psikotikoak (eldarniozko nahasmendua eta nahaste bipolarra, besteak beste) tratatzeko gomendatzen dira. APek, orokorrean, dopaminaren hartzaileen edota serotoninaren hartzaileen blokeoan oinarritu dira (Lally eta MacCabe, 2015). Lehen belaunaldiko APek (adibidez, haloperidol edo klorpromazina) dopaminaren D2 hartzailea blokeatzen edo antagonizatzen dute. Bigarren belaunaldiko APek (adibidez, ketiapina edo klozapina) D2 hartzailea antagonizatzen dute, afinitate txikiagorekin, eta serotoninaren 5-HT2A hartzailearen antagonistak ere badira (Ginovart eta Kapur, 2012). APek sintoma positiboak nabarmen hobetzen dituzten arren, sintoma negatibo eta kognitiboen aurrean duten eraginkortasuna apala da, eta ondorio kaltegarri ugari dituzte (Marder eta Cannon, 2019). Klozapina (CLO), AP eraginkorrena izan arren, gainerako APei erresistente diren pazienteetan bakarrik aholkatzen da, erabilerarekin lotutako agranulozitosi eta sindrome metabolikoagatik (Dong et al., 2020). Hala ere, disfuntzio glutamatergiko baten hipotesia indartzen duten ebidentziak aurkitu direnez gero (berrikuspen baterako, ikusi Marek et al., 2010), sistema honetan aritzen diren farmakoak proposatu dira. Hipotesi glutamatergikoak aurreikusten du glutamatoaren hartzaile metabotropiko 2/3ren (mGluR2/3) estimulazioa onuragarria izan daitekeela eskizofreniaren tratamenduan (Marek, 2015). mGluR2/3ren funtsezko funtzio bat neurotransmisoreen askapena inhibitzea da, beraz, glutamatoarena (auto-hartzaileak) ez ezik, beste neurotransmisore batzuen askapena ere modulatzen dute, hala nola dopamina eta GABA (hetero-hartzaileak) (Lyon et al., 2008). mGluR2/3 agonistek eskizofrenia gaixoetan aurreko garuneko zirkuitu alteratuetan transmisio-oreka berreskuratzen dutela uste da. Beste hitzetan, mGluR2/3 aktibatzeak kortex aurrefrontaleko sinapsietan gehiegizko kitzikapen-transmisioa murriztu dezake, glutamatoaren mailak erregulatuz (Noetzel et al., 2012). Hala ere, entsegu klinikoek emaitza nahasiak eman dituzte (berrikuspen baterako, ikusi Maksymetz et al., 2017). Adibidez, LY2140023, mGluR2/3 aktibatzen dituen agonista baten monoterapiak ez zuen plazeboarekiko nagusitasunik erakutsi eta bere garapena eten egin zen (Stauffer et al., 2013). Hala ere, entseguan parte hartu zuten subjektuen azpitaldeen azterketa batean, lehenengo belaunaldiko APekin tratatutako subjektuengan LY2140023-k plazeboak baino eraginkortasun handiagoa erakutsi zuela behatu izan zen. Azpitalde honetan, baina ez beste APekin tratatutako subjektuetan, ikusitako LY2140023ren eraginkortasuna lehen eta bigarren belaunaldiko APen 5-HT2A hartzailearen blokeo ezberdintasunean oinarritu daiteke. Izan ere, 5-HT2A hartzailearen blokeoak mGluR2 proteinaren erregulazio negatiboa eragin dezakeela proposatu da (Kinon et al., 2015). Zenbait ikerketetan, CLOren (5-HT2A hartzailearekiko afinitate altua duena) tratamendu kronikoak GRM2ren sustatzailean histonen marka epigenetiko aktibatzaile batzuk murrizten dituela ikusi da. Mekanismo hau 5-HT2A hartzailearen antagonismoaren menpekoa izan daitekeela proposatu da (Kurita et al., 2012; Ibi et al., 2017). Beraz, entsegu kliniko hauetan erabilitako pazienteen populazio orokorrean, mGluR2/3ren farmako aktibatzaileen eraginkortasun falta behatu zen. Eraginkortasun falta hau aurretiko AP tratamenduak bigarren belaunaldiko APekin eragindako kortex aurrefrontaleko mGluR2/3ren dentsitate txikituagatik gerta daiteke (Maksymetz et al., 2017).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburua

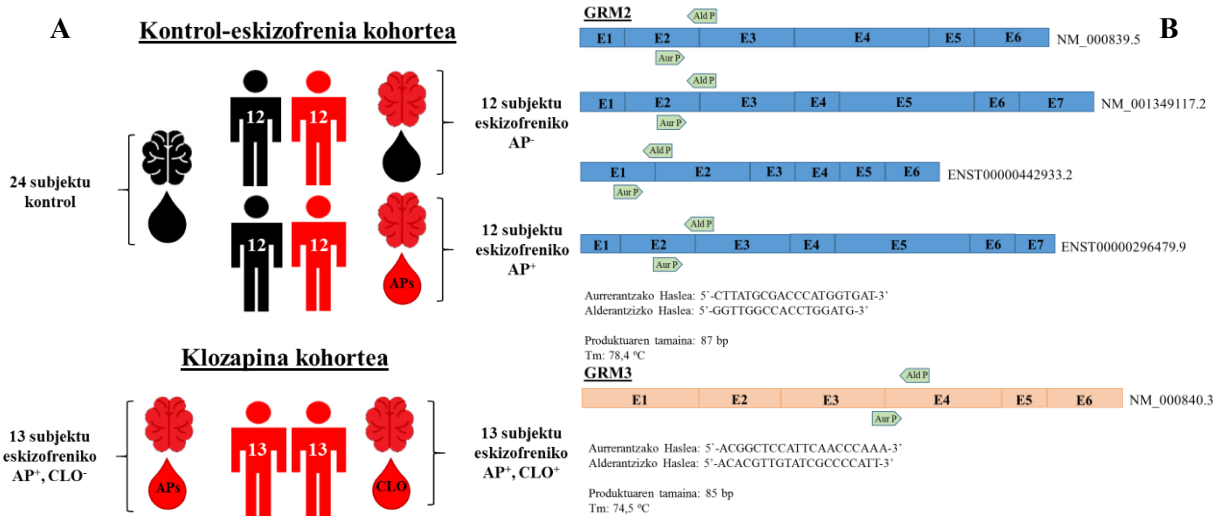
Eskizofrenian mGluR2 proteinaren eta bere gene kodetzailearen (GRM2) garuneko adierazpena gutxituta ikusi dira, murrizketa handiagoarekin APekin tratatutako subjektu eskizofrenikoetan (Miranda, 2014). APekin tratatutako subjektu eskizofrenikoetan GRM2ren gene-adierazpenaren murrizketa CLOrekin tratatutako subjektu eskizofrenikoentzat espezifikoa izan daiteke. Hala ere, lehen aipatutako mekanismo epigenetiko horrek (Kurita et al., 2012; Ibi et al., 2017) benetan GRM2ren gene-

adierazpena murrizten duen CLOrekin tratatutako subjektu eskizofrenikoen garunetan aztertzeko dago. Gainera, mekanismo hori erabili ohi diren APen propietate partekatua den edo, aitzitik, CLOren ezaugarri espezifiko bat den oraindik ez da ezagutzen. Horrez gain, mGluR3ren gene kodetzailea, GRM3, sentikortasun gene gisa identifikatu da eskizofrenian (Harrison et al., 2008). Gure taldeak egindako ebaluazioak subjektu eskizofrenikoen garunetan mGluR3 proteinaren adierazpenaren murrizketa erakutsi du, baina gene-adierazpenari buruzko informazioa falta da oraindik. mGluR2 eta mGluR3 sekuentzia-identitate handia daukate, eta antigorputzen edo ligandoen bidez bereizteko zailak dira (Lyon et al., 2008; Harrison et al., 2008). Proteina mailan emaitza kontrajarriak mGluR2 eta mGluR3 ezagutzen dituzten antigorputzen eta ligandoen espezifikotasun baxuaren ondoriozkoak izan daitezke. PCR kuantitatiboa (qPCR), aldiz, GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena bereizteko gai da. Beraz, ikerketa honen helburua GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena APekin tratatu eta ez tratatutako subjektu eskizofrenikoen garun postmortemeko kortex aurrefrontaletan ebaluatzea da, transkripzio-erregulazioak mGluR2/3 proteinen adierazpenean ikusitako desberdintasuna azaldu ahal duen jakiteko. GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena CLOrekin tratatutako eta CLO ez diren APekin tratatutako subjektu eskizofrenikoetan ere ebaluatu zen, gizakietan GRM2ren transkripzio-erregulazioa CLOren ezaugarri berezia (beste APekin alderatuta) den ala ez ezagutzeko.

3. Ikerketaren muina

Garunak Bilboko Auzitegi Medikuntzako Euskal Institutuan egindako autopsietatik lortu ziren, ikerketa eta berrikuspen etikoen batzordeen politikak betez. RNA totala postmortem garunetako kortex aurrefrontaleko laginetatik erauzi zen eta alderantzizko transkripzioa egin zen cDNA sortzeko. GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren balioak subjektu eskizofrenikoetan eskizofreniarik gabeko kontrolekin alderatuta nabarmen aldatzen diren ebaluatzeko, eskizofrenia zuten kasuen eta kontroletako 24na bikoteko kohorte bat erabili zen. Subjektu eskizofrenikoak APekin tratatutako (AP^+, n=12) edo ez tratatutako (AP^-, n=12) subjektuetan banatu ziren, heriotzaren unean odolean lehen/bigarren belaunaldiko APen presentzia edo absentziaren arabera, hurrenez hurren. Bestalde, GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren balioak CLOrekin tratatutako (CLO^+) subjektu eskizofrenikoen eta beste APekin tratatutako subjektu (CLO^-) eskizofrenikoen artean konparatzeko, 13 CLO^+ subjektu eskizofreniko eta 13 parekatutako CLO^- subjektu eskizofreniko zeukan kohorte bat aztertu zen (ikusi 1A. irudia). Subjektu bikote guztiak adinaren, sexuaren eta postmortem atzerapenaren arabera parekatu ziren.

1. irudia. (A) Kontrol-eskizofrenia eta klozapina kohorteen osaketa. Eskizofreniaren edo APen absentzia garun edo tanta beltzez irudikatzen da, hurrenez hurren. Eskizofreniaren edo APen presentzia garun edo tanta gorriz irudikatzen da, hurrenez hurren. NM = proteinak kodeatzen dituzten NCBIko transkripzio barianteak. ENST = Ensembl-ko transkipzio bariante moztu-itsatsiak. **(B) GRM2 eta GRM3ren transkripzio barianteak anplifikatzeko erabilitako hasleen exoi kokapena, anplifikazio produktuaren tamaina eta *melting* tenperatura (Tm).**



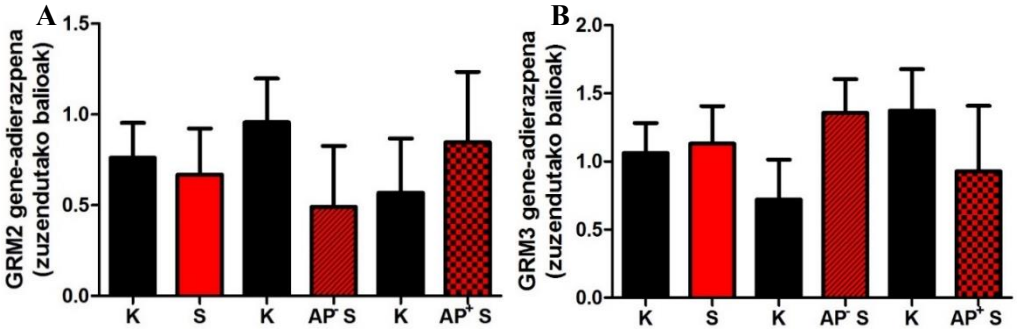
GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren mailak neurtzeko qPCRa erabili zen. qPCR teknikak DNA molekula baten anplifikazioa monitorizatzen du PCRan zehar. qPCR produktuak bi modu nagusitan detekta daitezke: kate bikoitzeko edozein DNA molekuletan tartekatzen diren koloratzaile fluoreszente ez-espezifikoak (adibidez, SYBR Green), edo sekuentzia espezifiko baterantz zuzendutako fluoroforo erreportari batekin etiketatutako oligonukleotidoak (adibidez, TaqMan zundak) erabiliz. Fluoroforoaren fluoreszentzia neurtzeak produktu zehatz baten edo gehiagoren sorkuntza-tasa PCR zikloetan zehar neurtzea ahalbidetzen du (Watson et al., 2004). Anplifikazio-kurba osoa fluoreszentzia atari bat gainditzen duen zikloaren arabera laburbiltzen da, atari-zikloa (Ct) deritzona. Ct-ak eta hasierako DNA molekularen kopuruak alderantzizko erlazioa daukate. Beraz, atari-ziklo balio txikiago batek lagin batean DNA molekularen hasierako kontzentrazioa handiagoa dela eta PCR ziklo gutxiago behar direla fluoreszentzia-ataria gainditzeko esan nahi du (Hsu et al., 2021).

Gene-adierazpena -ΔΔCt (kontrol-eskizofrenia kohortean) edo maila erlatibo (klozapina kohortean) balio gisa adierazi zen. GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren mailak bi aldiz normalizatu ziren kontrol-eskizofrenia kohortean. Alde batetik, GAPDH eta RPS13 *housekeeping* geneen adierazpena neurtu zen lagin berdinetan, GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren balioak lagin berean lortutako barne erreferentziako balio batera normalizatzeko. Bestaldetik, esperimentuen arteko aldakortasuna kontrolatzeko, esperimentu guztietan erreferentziazko lagin beraren gene-adierazpena neurtu zen. Erreferentziazko lagin honen gene-adierazpena balio indibidual bakoitzaren bigarren normalizazio bat egiteko erabili zen. Klozapina kohortearen kasuan, alde batetik, GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren balioak normalizatzeko, GAPDH eta RPS13 *Housekeeping* geneen adierazpenaren balioetara erreferentziatu ziren. Bestaldetik, CLO^+ eta CLO^- subjektuen GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren balio normalizatuak CLO^+ subjektuen batez besteko GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren balio normalizatuetara erreferentziatu ziren. Fast SYBR™ Green Master Mix (Thermo Fisher) erabili zen GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena neurtzeko. TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher) erabili zen GAPDH eta RPS13ren gene-adierazpena neurtzeko. qPCRan erabilitako GRM2ra zuzendutako hasleekin NCBIko Gene datu basean erregistratutako GRM2ren NM_000839.5 (mGluR2ren isoforma luzeena eta kanonikoaren kodeatzailea) eta NM_001349117.2 (mGluR2ren isoforma motzago baten kodeatzailea) transkripzio barianteak anplifikatu ziren. Ensembl datu baseko GRM2ren ENST00000442933.2 (mGluR2ren beste isoforma motzago baten kodeatzailea) eta ENST00000296479.9 (*Stop* kodoi goiztiar bat daukan transkripzio bariantea) ere anplifikatu ziren. Hau da, GRM2ra zuzendutako hasleekin lehen aipatutako 4 transkripzio barianteak anplifikatu ziren. GRM3ra zuzendutako hasleekin NCBIko Gene datu baseko GRM3ren NM_000840.3 (mGluR3ren isoforma luzeena eta kanonikoaren kodeatzailea) transkripzio bariantea anplifikatu zen (1B. irudia). Kontrolen eta AP^+ edo AP^- subjektu eskizofrenikoen artean, baita CLO^+ eta CLO^- subjektuen artean ere, GRM2 eta GRM3ren batez besteko gene-adierazpenaren balioetan desberdintasun esanguratsurik dagoenetz aztertzeko, bi isatsetako parekatu gabeko t-testa (Welsch-en test) erabili zen. Adinaren eragina GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenean Pearson-en korrelazio-analisiaren bidez ebaluatu zen kontrol-eskizofrenia kohortean. Subjektuen sexuaren eta GRM2 edo GRM3ren gene-adierazpenaren arteko erlazioa Student-en bi isatsetako parekatu gabeko t-testaren (Welsch-en test) bidez aztertu zen kontrol-eskizofrenia kohortean.

3.1. GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena kontrol eta subjektu eskizofrenikoetan

Ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu GRM2ren gene-adierazpenean kontrol eta subjektu eskizofrenikoak alderatzean ($p=0,77$, $n=22$, 2A. irudia), ezta AP^- subjektu eskizofrenikoak ($p=0,28$, $n=11$, 2A. irudia) ezta AP^+ subjektu eskizofrenikoak ($p=0,58$, $n=11$, 2A. irudia), beraiei dagozkien kontrolekin alderatzean ere. GRM3ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu kontrol eta subjektu eskizofrenikoak alderatzean ($p=0,84$, $n=21$, 2B. irudia) ezta AP^+ subjektu eskizofrenikoak beraiei dagozkien kontrolekin alderatzean ere ($p=0,45$, $n=11$, 2B. irudia). Hala ere, GRM3ren gene-adierazpenaren gorakada sotil bat ikusi zen AP^- subjektu eskizofrenikoetan haiekin parekatutako kontrolekin alderatzean, baina ez zen esanguratsua ($\Delta=\%44$, $p=0,11$, $n=10$, 2B. irudia).

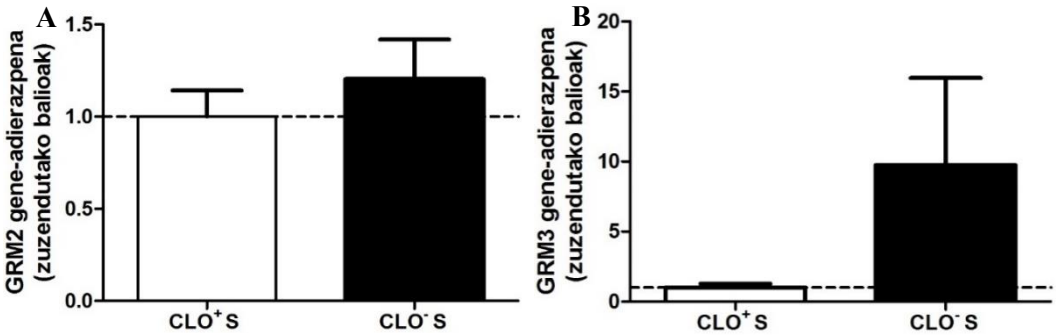
2. irudia. (A) GRM2ren zuzendutako gene-adierazpenaren balioak kontrolen (barra beltzak) eta subjektu eskizofrenikoen (barra gorriak) kortex aurrefrontalean. Subjektu eskizofreniko (S, n=22) eta kontrol (K, n=22) totalak. APrik gabeko subjektu eskizofrenikoak (AP^- S, n=11) eta dagozkien kontrolak (n=11). APekin tratatutako subjektu eskizofrenikoak (AP^+ S, n=11) eta dagozkien kontrolak (n=11). **(B) GRM3ren zuzendutako gene-adierazpenaren balioak kontrolen (barra beltzak) eta subjektu eskizofrenikoen (barra gorriak) kortex aurrefrontalean.** Subjektu eskizofreniko (S, n=21) eta kontrol (K, n=21) totalak. APrik gabeko subjektu eskizofrenikoak (AP^- S, n=10) eta dagozkien kontrolak (n=10). APekin tratatutako subjektu eskizofrenikoak (AP^+ S, n=11) eta dagozkien kontrolak (n=11). Emaitzak batez besteko balioa ± SEM gisa erakusten dira.



3.2. GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpena klozapinarekin tratatutako eta klozapinaz beste antipsikotikoekin tratatutako subjektu eskizofrenikoetan

GRM2ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu CLO^+ subjektu eskizofrenikoak eta CLO^- subjektu eskizofrenikoak alderatzean (Δ=%20, p=0,44, n=12 3A. irudia). GRM3ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu CLO^+ subjektu eskizofrenikoak eta CLO^- subjektu eskizofrenikoak alderatzean (Δ=%874, p=0,19, n=12, 3B. irudia).

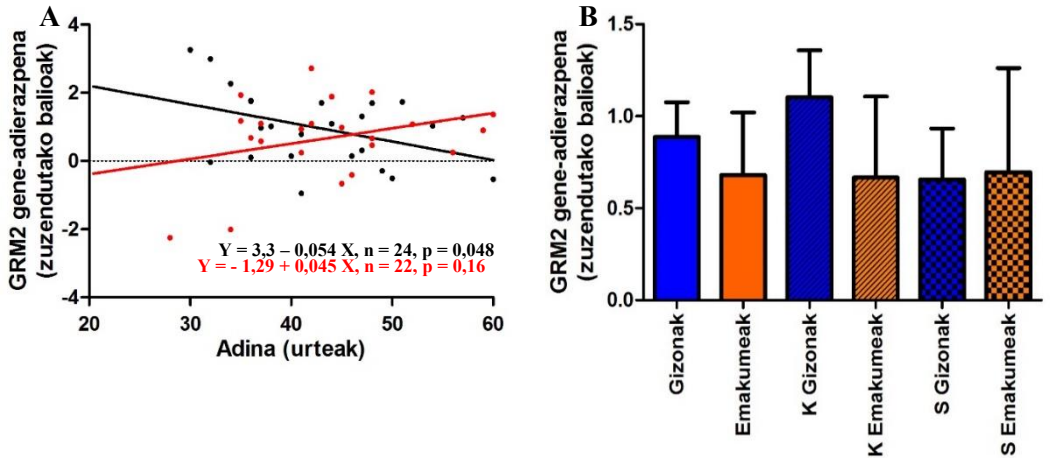
3. irudia. CLOrekin tratatu gabeko subjektu eskizofrenikoen (CLO^- S, n=12) eta CLOrekin tratatutako subjektu eskizofrenikoen (CLO^+ S, n=12) GRM2 (A) edo GRM3ren (B) gene-adierazpena. Emaitzak batez besteko balioa ± SEM gisa erakusten dira.



3.3. Adinaren eta sexuaren eraginaren azterketa

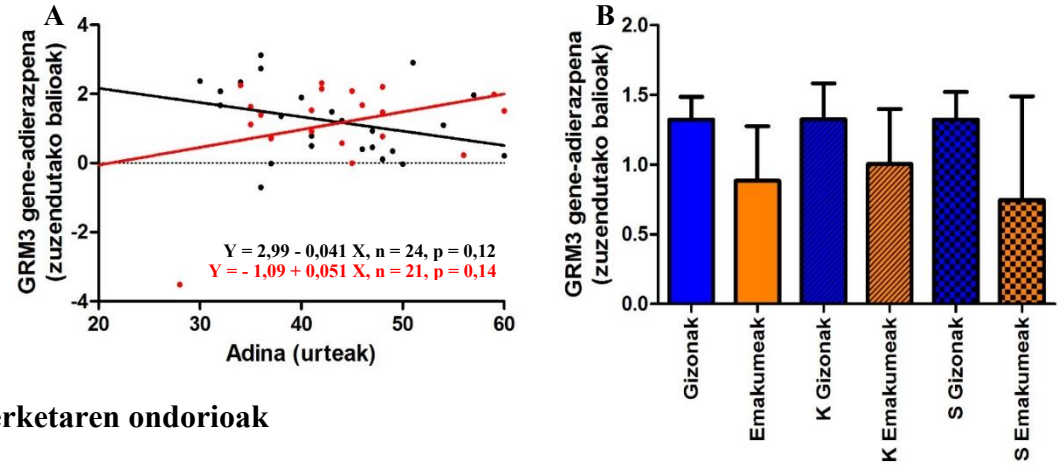
Erregresio linealaren analisia GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren eta adinaren artean egin zen kontrol-eskizofrenia kohortearen kontroletan eta subjektu eskizofrenikoetan. GRM2ren gene-adierazpenari dagokionez, GRM2ren gene-adierazpenaren eta adinaren arteko korrelazio negatibo esanguratsua ikusi zen kontroletan (p=0,048, n=24, Pearson-en r=-0,41, 4A. irudia), baina ez subjektu eskizofrenikoetan (p=0,16, n=22, r=0,31, 4A. irudia). GRM2ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu gizon eta emakumeen artean (p=0,6, gizonak n=31, emakumeak n=15, 4B. irudia), ezta diagnostikoaren arabera banatu zirenean.

4. irudia. Adinaren (A) eta sexuaren (B) eraginaren azterketa GRM2ren zuzendutako gene-adierazpenean kontrol-eskizofrenia kohortean. Kontrolak (n=24) beltzez eta subjektu eskizofrenikoak (n=22) gorriz irudikatzen dira. Gizonak (n=31), kontrol gizonak (n=16) eta gizon eskizofrenikoak (n=15) urdinez irudikatzen dira. Emakumeak (n=15), kontrol emakumeak (n=8) eta emakume eskizofrenikoak (n=7) laranjaz irudikatzen dira. Emaitzak batez besteko balioa ± SEM gisa erakusten dira.



GRM3ren gene-adierazpenaren eta adinaren artean ez zen korrelazio esanguratsurik aurkitu kontroletan (p=0,12, n=24, r=-0,32, 5A. irudia) ezta subjektu eskizofrenikoetan (p=0,14, n=21, r=0,34, 5A. irudia) ere. GRM3ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu gizon eta emakumeen artean (p=0,31, gizonak n=30, emakumeak n=15, 5B. irudia), ezta diagnostikoaren arabera banatu zirenean.

5. irudia. Adinaren (A) eta sexuaren (B) eraginaren azterketa GRM3ren zuzendutako gene-adierazpenean kontrol-eskizofrenia kohortean. Kontrolak (n=24) beltzez eta subjektu eskizofrenikoak (n=21) gorriz irudikatzen dira. Gizonak (n=30), kontrol gizonak (n=16) eta gizon eskizofrenikoak (n=14) urdinez irudikatzen dira. Emakumeak (n=15), kontrol emakumeak (n=8) eta emakume eskizofrenikoak (n=7) laranjaz irudikatzen dira. Emaitzak batez besteko balioa ± SEM gisa erakusten dira.



4. Ikerketaren ondorioak

Postmortem garuneko kortex aurrefrontaleko GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun estatistikoki esanguratsurik aurkitu subjektu eskizofrenikoetan kontrol subjektuekin konparatuz. Horrez gain, AP^+ eta AP^- subjektu eskizofrenikoak dagozkien kontrolekin alderatzean ez zen lagin berberetan behatutako mGluR2 eta mGluR3 proteinen murrizketa (De la Cuesta-Barrutia, argitaratu gabe) azalduko lukeen gene-adierazpenaren murrizketarik behatu. Proteinen eta mRNA-en mailen emaitza kontrajarriak beste mekanismo batzuek eraginda izan daitezke, hala nola mikro RNAak edo proteinen degradazio azeleratua. RNA kortex aurrefrontalaren materia griseko laginetako sometatik erauzi zen. Beraz, ikerketa honetan aurkeztutako GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenaren datuek kortex aurrefrontaleko zelula neuronal eta gorputz glialetako adierazpena islatuko lukete, baina ez lukete islatuko proteina presinaptikoen transkripzio-erregulazioa soma kokapen desberdina duten proiekzio neuronaletan. Erradioligandoen lotura eta immunoblotting ikasketak mGluR2/3 proteina-maila totalak

(populazio presinaptikoak zein postsinaptikoak) neurtzeko gai dira. Orduan, baliteke lagin berberetan behatutako mGluR2/3ren dentsitatearen murrizketa kortex aurrefrontalerainoko proiekzio neuronalen (adibidez, talamokortikalekoak) mGluR2/3 proteina presinaptikoen murrizketak eraginda izatea. Bestalde, kontuan hartu behar da AP^- subjektuek lehenago antipsikotikoak hartu ahal izan dituztela, toxikologiak substantzia ezberdinen kontsumo-maila denbora tarte jakin batean bakarrik jakiteko aukera ematen digulako. Desberdintasunek subjektu eskizofrenikoen tratamenduetan emaitza desberdinak eragin ahal izan dituzte GRM2 eta GRM3ren gene-adierazpenean aurretiko lanekin konparatuz.

GRM2 edo GRM3ren gene-adierazpenean ez zen desberdintasun estatistikorik aurkitu CLO^+ eta CLO^- subjektu eskizofrenikoen artean. Emaitza hauek ez dute babesten CLOk edo beste APek GRM2ren gene-adierazpena modu bereizgarrian modulatzen duten hipotesia. Hala ere, nahiz eta esanguratsua ez izan, GRM3ren gene-adierazpenaren murrizketa bat ikusi zen CLO^+ subjektuetan, CLO^- subjektuekin konparatuz. Izan ere, aldakortasun handia ikusi zen CLO^- taldearen subjektuen artean, GRM3ri dagokionez. Aldakortasun honi aurre egiteko, CLOren eragina GRM2 eta GRM3 geneen adierazpenean aztertuko duten hurrengo esperimentuetan taldeen subjektu kopurua handitu ahal da.

GRM2ren gene-adierazpenaren eta adinaren arteko korrelazio negatibo esanguratsua ikusi da kontroletan, baina ez subjektu eskizofrenikoetan. Emaitza hauek eskizofrenian, adinaren araberako GRM2ren gene-adierazpenaren erregulazioa aberrantea izan daitekeela iradokitzen dute.

5. Etorkizunerako norabidea

mGluR2 eta mGluR3ren mRNA eta proteinen adierazpenari buruzko hainbat galdera oraindik argitu behar dira. Esate baterako, mGluR2 proteinaren beheranzko erregulazioa GRM2ren transkripzio murrizketaren bidez gertatzen ez bada, murrizketa hori eragiten duten mekanismo zehatzak identifikatu behar dira. Kontrol (epi)genetikoaren eta proteinaren adierazpenaren arteko erlazioa desitxuratzen duen faktoreren bat egon liteke. Proteinaren degradazio prozesuak azeleratuak egotea proteinaren adierazpenean ikusitako murrizketaren arrazoi bat izan daiteke. Horrez gain, disoziazio hori itzulpena erregulatzen duten mikro RNAen bitartez ere gerta liteke. Eskizofrenian GRM2ren jaitsiera mikro RNAen desarautze batek eragiten duen argitzeak interes handia izan lezake. Bestalde, mGluR2 eta mGluR3rako ligando selektiboak aurkitzea funtsezkoa izango litzateke hartzaile bakoitzaren dentsitatea modu ezberdinean neurtzeko erradioligandoen finkapen-saioetan.

6. Erreferentziak

de la Cuesta-Barrutia, J. (argitaratu gabe). Evaluation of GPCR receptor complexes in mental disorders: potential novel therapeutic targets. Doctoral thesis. Department of Pharmacology, UPV/EHU.

de Oliveira-Souza, R., Marrocos, R. P., & Moll, J. (2007). The dementias of schizophrenia. *Dementia & neuropsychologia*, 1(2), 124–130.

Dong, R., Yuan, L., Yang, Y., Du. X.D., Jia, Q., Dillon, B.A., Yu, L., & Zhang, X.Y. (2020). Differential effects of different antipsychotic drugs on cognitive function in patients with chronic schizophrenia. *Human psychopharmacology*, 35(6), 1-8.

Ginovart, N., & Kapur, S. (2012). Role of dopamine D(2) receptors for antipsychotic activity. *Handbook experimental pharmacology,* 212, 27-52.

Green, M. F., Horan, W. P., & Lee, J. (2019). Nonsocial and social cognition in schizophrenia: current evidence and future directions. *World psychiatry: official journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, 18(2), 146–161.

Harrison, P. J., Lyon, L., Sartorius, L. J., Burnet, P. W., & Lane, T. A. (2008). The group II metabotropic glutamate receptor 3 (mGluR3, mGlu3, GRM3): expression, function and involvement in schizophrenia. *Journal of psychopharmacology*, 22(3), 308-322.

Howes, O., McCutcheon, R., & Stone, J. (2015). Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *Journal of psychopharmacology* (Oxford, England), 29(2), 97–115.

Hsu, B., Sherina, V., & McCall, M.N. (2021). Autoregressive modeling and diagnostics for qPCR amplification. *Bioinformatics*, 36(22-23), 5386-5391.

Ibi, D., de la Fuente Revenga, M., Kezunovic, N., Muguruza, C., Saunders, J. M., Gaitonde, S. A., Moreno, J. L., Ijaz, M. K., Santosh, V., Kozlenkov, A., Holloway, T., Seto, J., García-Bea, A., Kurita, M., Mosley, G. E., Jiang, Y., Christoffel, D. J., Callado, L. F., Russo, S. J., Dracheva, S., … Callado, L. F., Russo, S. J., Dracheva, S., … González-Maeso, J. (2017). Antipsychotic-induced Hdac2 transcription via NF-κB leads to synaptic and cognitive side effects. *Nature neuroscience*, 20(9), 1247–1259

Kinon, B. J., Millen, B. A., Zhang, L., & McKinzie, D. L. (2015). Exploratory analysis for a targeted patient population responsive to the metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist pomaglumetad methionil in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 78(11), 754-762.

Kurita, M., Holloway, T., García-Bea, A., Kozlenkov, A., Friedman, A. K., Moreno, J. L., Heshmati, M., Golden, S. A., Kennedy, P. J., Takahashi, N., Dietz, D. M., Mocci, G., Gabilondo, A. M., Hanks, J., Umali, A., Callado, L. F., Gallitano, A. L., Neve, R. L., Shen, L., Buxbaum, J. D., … González-Maeso, J. (2012). HDAC2 regulates atypical antipsychotic responses through the modulation of mGlu2 promoter activity. *Nature neuroscience*, 15(9), 1245–1254

Lally, J., & MacCabe, J.H. (2015). Antipsychotic medication in schizophrenia: a review. *British medical bulletin*, 114(1), 169-179.

Lyon, L., Kew, J. N., Corti, C., Harrison, P. J., & Burnet, P. W. (2008). Altered hippocampal expression of glutamate receptors and transporters in GRM2 and GRM3 knockout mice. *Synapse (New York, N.Y.)*, 62(11), 842–850.

Maksymetz, J., Moran, S. P., & Conn, P. J. (2017). Targeting metabotropic glutamate receptors for novel treatments of schizophrenia. *Molecular brain*, 10(1), 15.

Marder, S. R., & Cannon, T. D. (2019). Schizophrenia. *The New England journal of medicine*, 381(18), 1753-1761.

Marek, G. J., Behl, B., Bespalov, A. Y., Gross, G., Lee, Y., & Schoemaker, H. (2010). Glutamatergic (N-methyl-D-aspartate receptor) hypofrontality in schizophrenia: too little juice or a miswired brain? *Molecular pharmacology*, 77(3), 317-326.

Marek, G. J. (2015). When is a Proof-of-Concept (POC) not a POC? Pomaglumetad (LY2140023) as a Case Study for Antipsychotic Efficacy. *Current pharmacological design*, 21(26), 3788-3796.

Miranda, P. (2014). Biochemistry, function and pharmacology of serotonin 5-HT2A and group II metabotropic glutamate receptors in postmortem human brain. Interest for psychosis. Doctoral thesis. Department of Pharmacology, UPV/EHU

Noetzel, M. J., Jones, C. K., & Conn, P. J. (2012). Emerging approaches for treatment of schizophrenia: modulation of glutamatergic signaling. *Discovery medicine*, 14(78), 335–343.

Owen, M. J., Sawa, A., & Mortensen, P. B. (2016). Schizophrenia. *Lancet.* 388(10039), 86-97.

Stauffer, V. L., Millen, B. A., Andersen, S., Kinon, B. J., Lagrandeur, L., Lindenmayer, J. P., & Gomez, J. C. (2013). Pomaglumetad methionil: no significant difference as an adjunctive treatment for patients with prominent negative symptoms of schizophrenia compared to placebo. *Schizophrenia research*, 150(2-3), 434-441.

Uno, Y., & Coyle, J. T. (2019). Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 73(5), 204-215.

Watson, J. D., Baker, T. A., Bell, S. P., Gann, A., Levine, M., & Losick, R. (2004). Molecular Biology of the Gene (5. ed.). Benjamin Cummings, San Francisco.

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa lan hau Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) Farmakologia Sailean, Guadalupe Rivero eta Alfredo Ramos-en zuzendaritzapean, egindako Master Amaierako Lan baten parte izan da. Lan honek MCIU/AEI/FEDER-en (RTI2018-094414-A-I00) eta Eusko Jaurlaritzaren (IT211/19, IT1512/22) diru-laguntzak jaso zituen.

Generoaren araberako obesitatearen estigmatizazioa

Miren Santos (1) eta Eva Pereda-Pereda (2)(3)

(1) Psikologia Klinikoa eta Osasunaren Psikologia eta Ikerketa Metodologia Saila, Psikologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), (2) Gasteizko Erizaintzako Unibertsitate-Eskola, Osakidetza (3) Biodonostia, Neurozientzien Alorra, Osasun Mentala eta Arreta Psikiatrikoaren Taldea

msantos037@ikasle.ehu.eus

Laburpena

Pisu-estigmak alor ezberdinetan presente egoten jarraitzen du, obesitatea duten banakoak askotan estigmatizatuak izanik eta generoaren araberako ezberdintasun nabarmenak aurkiturik. Ebidentzia hori kontrastatzeko helburuarekin, hainbat datu-basetan gauzatutako bilaketetan oinarritu da berrikuspen hau, gainpisua edo obesitatea duten emakume eta gizonen estigmatizazio-bizipenak alderatuz. Emaitzek erakutsi dutenaren arabera, gehiegizko pisua duten emakumeek pisu-estigma bizitzeaz gain genero-ezberdintasunei ere aurre egin behar izaten diete. Aurkikuntza hauek bat egiten dute aurretik argitaratutako zenbait ebidentziekin, eta etorkizunerako ikerketa-ildoak proposatzen dira hauetatik abiatuta.

Hitz-gakoak: gainpisua, obesitatea, generoa, pisu-estigma, diskriminazioa

Abstract

Weight stigma remains present in several settings, often stigmatizing individuals with obesity and finding remarkable differences according to gender. In order to contrast this evidence, this review was based on searches in different databases, and comparing experiences of stigmatization of women and men with overweight or obesity. The results showed that women with overweight experienced weight stigma and faced gender inequalities. These findings align with previously published evidence and they are proposed future research-paths based on these findings.

Keywords: overweight, obesity, gender, weight-stigma, discrimination

1. Sarrera eta motibazioa

Mundu mailan, 2015ean 1,9 mila milioi eta 609 milioi heldu erregistratu ziren gainpisuarekin eta obesitatearekin, hurrenez hurren, munduko populazioaren % 39a adieraziz. Zehazki, Europan, gainpisuaren prebalentzia % 48tik % 59,6ra igo zen 1980tik 2015eko denbora-tartean, eta obesitatearena % 14,5etik % 22,9ra (Chooi et al., 2019).

Obesitatea sailkatzeko hainbat irizpide daude, adipositatean oinarritutako gaixotasun kronikoan (A kodeak), gorputz-masaren indizean (GMI) (B kodeak), arazo biomekaniko eta kardiobaskular zehatzetan (C kodeak), eta arazoen larritasun-mailan (D kodeak) multzokatu daitezkeenak. GMI-aren araberako sailkapenean obesitatea definitzeko orduan ≥30 kg/m^2 GMI hartzen da neurri moduan, gainpisua definitzeko 25 eta 29,9 kg/m^2 bitarteko GMI hartzen den bitartean. Halaber, hiru obesitate-mota aurki ditzakegu: lehen motako obesitatea (GMI = 30-34,9 kg/m^2); bigarren motakoa (GMI = 35-39,9 kg/m^2); eta hirugarren motakoa (GMI ≥ 40 kg/m^2) (Garvey eta Mechanick, 2020).

Pisuari dagokion estigma gainpisua edo obesitatea edukitzeagatik banakoen aurkako errefusa eta debaluazio soziala da, jarrera negatiboetara, estereotipoetara, aurreiritzietara eta diskriminaziora eraman dezakeena (Rubino et al., 2020). Pisuaren ondoriozko estigma hainbat alorretan gertatzen da: lanean, osasunean, hezkuntzan, pertsona arteko harremanetan eta komunikabideetan (Puhl eta Heuer, 2010; Spahlholz et al., 2016).

Obesitatearen eta honen ondorio negatiboen inguruko ikerketek obesitatea duten banakoek sintoma fisiko eta psikologikoak garatzearekiko sentikortasun handiagoa dutela egiaztatu dute (Pearl eta Puhl, 2018; Sutin et al., 2014). Estigma maiztasun altuagoak GMI-arekin nahiz funtzionamendu psikologiko okerrago batekin modu positiboan erlazionatzen dira, esaterako, depresio-maila altuagoa, sintoma psikiatrikoak, gorputz-irudiaren ondoriozko estutasuna, antsietate-maila altuagoak, hautemandako estresa, elikadura eta pisuaren kontrolerako jokabide

okerrak eta autoestimu, auto-irudi nahiz auto-baieztapen maila baxuak (Carr eta Friedman, 2005; Emmer et al., 2020; Pearl eta Puhl, 2018).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Pisuari lotutako estigma obesitatea duten banako guztiek bizi duten errealitatea den arren, bizitzan zehar sufritutako diskriminazioari buruzko ikerketa baten emaitzek genero-ezberdintasun nabarmenak erakutsi zituzten; prebalentzia askoz altuagoa izan zen emakumeengan gizonengan baino (Puhl et al., 2008). Emakumeen artean, prebalentzia % 20,6ko (lehen motako obesitatea) eta % 45,4ko (bigarren/hirugarren motako obesitatea) tartean mugitu zen. Aldiz, gizonengan tartea % 6,1aren eta % 28,1aren artekoa izan zen. Emakumeek bizitza osoko, lan- eta osasun-arloko diskriminazio handiagoa adierazten dute gizonen aldean (Azarbad eta Gonder-Frederick, 2010), eta muturreko obesitatea duten emakumeek (bigarren/hirugarren mota) hautemandako diskriminazio-maila are altuagoa adierazten dute lehen motako obesitatea duten emakumeen eta gizonen aldean (Dutton et al., 2014; Puhl et al., 2008).

Hautemandako pisuaren ondoriozko diskriminazioan gizonek duten prebalentzia baxuagoak hauen artean obesitatearen onarpen handiagoa isla dezake (Puhl et al., 2008), gainpisua edo obesitatea edukitzea gizonengan sozialki onartuagoa egon daitekeela iradokiz (Spahlholz et al., 2016). Hain zuzen ere, aurreko hamarkadetan genero-ezberdintasunei dagokien kontzientzia areagotu den arren, gaur egun oraindik generoa esploratu gabeko lurraldea kontsideratzen da obesitatearen medikuntzan. Genero diskriminazioa errealitate ukaezina da, obesitatea bezalako asaldura bat dutenengan kezka nagusia izanik. Obesitateari dagozkion genero-ezberdintasunak ulertzeak eragin garrantzitsua eduki lezake obesitatearen tratamenduan nahiz gaixotasun honen prebentzio eta kudeaketarako esku-hartze indibidual eta komunitarioen planifikazioan. Izan ere, gai honetan ulermen-maila sakonago batek gaixotasun-baldintza espezifikoei dagokienez desoreka hau are gehiago gutxitzen lagunduko luke (Kapoor et al., 2021).

Horiek horrela, berrikuspen sistematiko honen helburu nagusia gainpisua eta obesitatea duten pertsonek sufritzen duten diskriminazio-tasa generoaren arabera aztertzea da. Hau da, obesitatearen ondoriozko diskriminazioaren nahiz estigmaren faktore eragile moduan, generoak betetzen duen paperari buruzko informazioa eskuratzea da lan honen lehentasunezko helburua. Horrez gain, gehiegizko pisua daukaten pertsonek bizitzako alor ezberdinetan bizi duten eta beren osasun mentalari bereziki eragiten dion diskriminazioaren inguruko kontzientzia sustatzea bilatzen du (Emmer et al., 2020; Pearl eta Puhl, 2018). Bestalde, lanaren ardatz nagusiarekin bat eginez, pisuaren ondoriozko diskriminazioan generoak betetzen duen papera azaleratzea bilatzen da, gehiegizko pisua daukaten emakumeen bizi-baldintzen eta egoera bereko gizonen baldintzen arteko alderaketaren bidez.

3. Ikerketaren muina

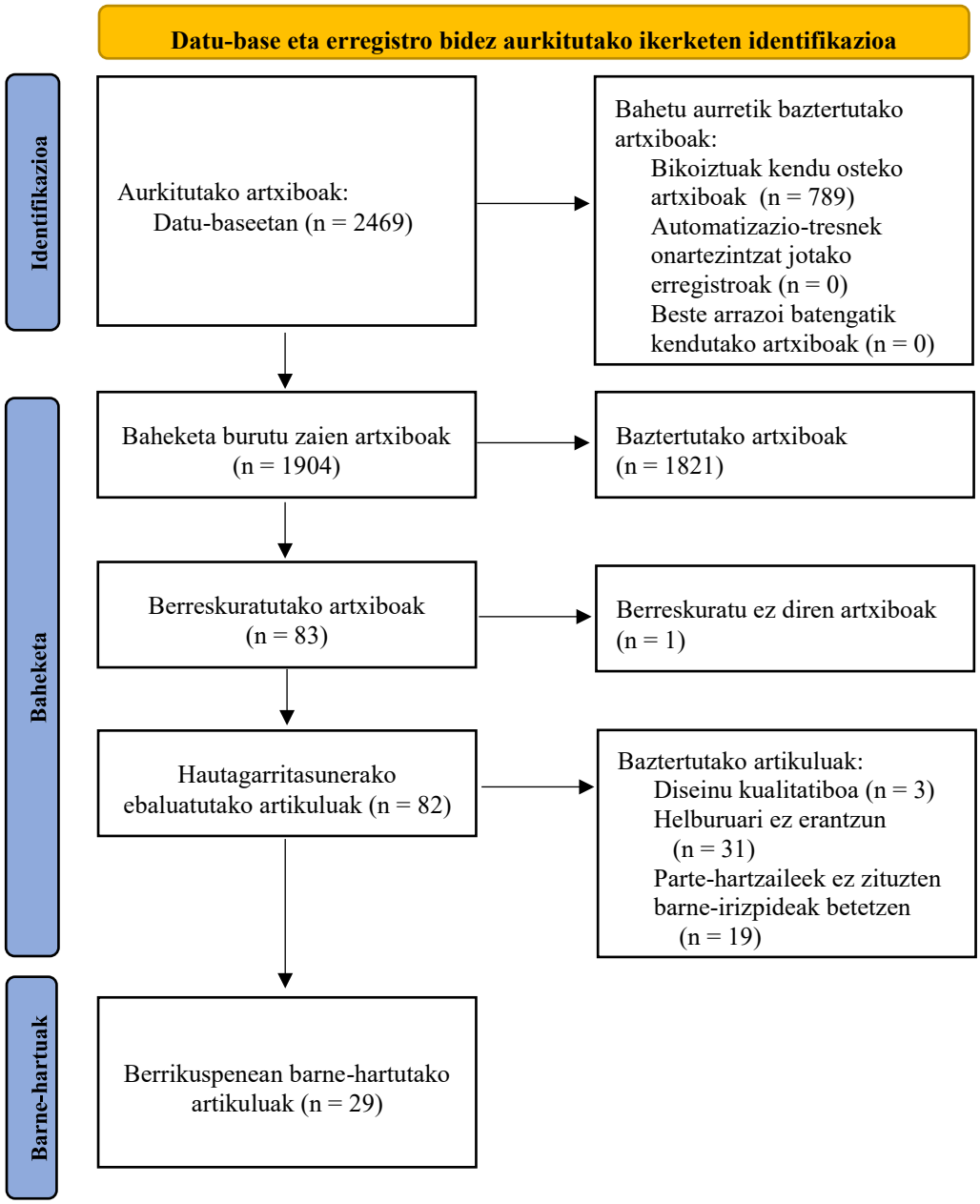
3.1 Metodologia

Berrikuspen sistematiko honek PRISMA gidak adosten duen metodoarekin egin zuen bat (Page et al., 2021). Ikerketa-artikuluak hautatzeko, bilaketak honako datu-baseetan gauzatu ziren: *PubMed, Web of Science, Scopus* eta *PsycINFO*. Bilaketetan ez zen denbora-tarterik ezarri, berrikuspen sistematiko osatuago bat lortzeko asmoz. Bestalde, erabili ziren hitz-gakoak (ingelesez) hurrengoak izan ziren: *high BMI, overweight, obesity, weight prejudice, weight stigma, stigmatization, stereotyping, bias* eta *women*. Artikulu enpirikoak ez ziren iturri guztiak baztertu egin ziren, aldiz, *case report*, *classical article, clinical study, comparative study, controlled clinical trial, evaluation study, journal article, multicenter study, pragmatic clinical trial* barneratuz. Bilaketa-prozesuan zehar, datu-base ezberdinetan aukeratutako hitz-gakoen konbinazioak egin ziren. Hizkuntzari dagokionez, soilik gaztelaniaz eta ingelesez idatzitakoak erabili ziren, eta parte-hartzaileen adin-tartea 18 urtetik gorakoa hartu zen.

Barne-irizpideekin jarraituz, lagina GMI kategoria ezberdinetako emakumeengatik eta gizonengatik osatuta egon behar zen, gainpisua eta obesitatea zuten pertsonak identifikatuz; modu horretan, generoaren eta pisuaren araberako estigmaren alderaketa bizitzako edozein alorretan

bermatzeko asmoz. Berrikuspen sistematiko honentzako baliagarriak ziren artikuluak hautatu eta gero, banan-banan irakurri ziren eta helburua betetzen ez zutenak zein behin sakon irakurrita aurretik aipatutako irizpideak betetzen ez zituztenak alderatu ziren. Bukaeran, prozesu guztia fluxu-diagrama batean islatu zen (ikus 1. irudia).

1. irudia. Bilaketaren fluxu-diagrama



3.2 Emaitzak

Obesitatearen estigma neurtzeko moduak

Hautatutako ikerketek obesitatearen estigma neurtzeko modu inplizituan edota esplizituan egin zuten. Alde batetik, estigma inplizituak pertsonen bizitzan zeharreko esperientziak aztertzen ditu. Hau da, lagina parte-hartzaileen ezaugarri bat edo batzuk kontuan hartuz osatzen da (kasu honetan, parte-hartzaileen GMI-a eta sexua), eta ondoren, ezaugarri horren eta parte-hartzaileek eskainitako datuen (esaterako, hautemandako estigma edo soldata) arteko kausa-ondorio harremanak ezartzen dira. Bestalde, estigma esplizituan arreta parte-hartzaileei aurkeztutako estimuluetan jartzen da. Hau da, egunerokotasunean bizi daitezkeen esperientzia

estigmatizatzaileak bildu ordez, ausaz hautatutako parte-hartzaileak bildu, eta intereseko aldagaia barne hartzen duten (kasu honetan, GMI-a eta sexua) egoera ezberdinak aurkezten zaizkie (esaterako, obesitatea duen gizon eta emakume baten argazkiak). Ondoren, parte-hartzaileek estimuluekiko dituzten jarrerak neurtu egiten dira, orokorrean galde-sortak erabiltzen direlarik. Horrela, aztertutako 14 ikerketek esplizituki ebaluatu zuten obesitatearen estigma eta 15 ikerketek inplizituki.

Pisu-estigma esplizitua

Jada arestian aipatu bezala, 14 artikuluk parte-hartzaileek GMI ezberdinetako pertsonekiko zituzten jarrerak aztertu zituen galde-sorten edota eskalen bidez (Busetta et al., 2020; Cassiano et al., 2022; Flint et al., 2016; Giel et al., 2012; González-García eta Acuña, 2014; Harris et al., 1982; Jasper eta Klassen, 1990; Musher-Eizenman eta Carels, 2009; Obara et al., 2018; Pingitore et al., 1994; Puhl et al., 2009; Randall et al., 2017; Waller et al., 2012). Hauetatik, zenbaitek lanerako egokitasunaren bidez neurtu zuten estigma, eta guztietan gainpisua edo obesitatea zuten gizonak maila bereko emakumeak baino modu egokiagoan ebaluatuak izan ziren lan egiteko (Flint et al., 2016; Giel et al., 2012; Pingitore et al., 1994). Esaterako, Pingitore et al.-en (1994) ikerketan, gainpisua zuten gizonek gainpisua zuten emakumeek baino aukera gehiago zituzten kontratatuak izateko, emakume hautagaientzat pisuak, kontratatzeko erabakiaren % 47a azaltzera iritsiz.

Beste hainbat ikerketek pertsonei egotzitako nortasun-aldagaien edo atributuen bidez neurtu zituzten jarrerak (Cassiano et al., 2022; González-García eta Acuña, 2014; Harris et al., 1982; Musher-Eizenman eta Carels, 2009; Obara et al., 2018; Puhl et al., 2009; Randall et al., 2017; Waller et al., 2012). Bi ikerketetan ez zen GMI kategoria bereko pertsonen artean sexuaren araberako ezberdintasun esanguratsurik aurkitu (Harris et al., 1982; Randall et al., 2017); hau da, ez zen gizonak emakumeak baino modu positiboagoan ebaluatuak zirelako ebidentziarik aurkitu. Are gehiago, beste bi ikerketetan obesitatea zuten gizonek kategoria bereko emakumeek baino ebaluazio negatiboagoak jaso zituztela ikusi izan zen, ezaugarri negatibo gehiago egotziz (González-García eta Acuña, 2014), edo okerrago ebaluatuz (Puhl et al., 2009).

Dena den, ezaugarriak egozterako orduan emakumeek gizonek baino pisu-estigma handiagoa jasotzen zutelako ebidentziak ere azaleratu ziren (Musher-Eizenman eta Carels, 2009; Obara et al., 2018; Waller et al., 2012). Esaterako, Obara et al.-ek (2018) osasun zerbitzuetan obesitatea zuten emakumeek jasotako ebaluazioa obesitatea zuten gizonek jasotakoa baino okerragoa izan zela aurkitu zuten.

Azkenik, beste lan batzuek aurkeztutako pertsonarekin lan egiteko prestasunaren bidez aztertu zuten parte-hartzaileen jarrera (Busetta et al., 2020; Jasper eta Klassen, 1990). Hain zuzen ere, Busetta et al.-ek (2020) zortzi hautagairen lan-eskaerak osatu zituzten, bakoitzaren argazkiekin batera, hautagai bakoitzak lanpostuetatik jasotako deiak neurtuz. Espero bezala, obesitatea zuten emakumeek obesitatea zuten gizonek baino dei gutxiago jaso zituzten, eta egoera hau areagotu egiten zen hautagaia atzerritarra zenean.

Pisu-estigma inplizitua: Pisu-estigma lan testuinguruan

Pisu-estigma lan-egoeraren edota diru sarreraren bidez aztertu izan zen hainbat artikulutan, guztietan 1.000tik gorako datuak erabili zirelarik, estatuko edo erkidegoko galdetegiak erabiliz. Orokorrean, obesitatea zuten emakumeen diru-sarrera beste edozein kategoriako pertsonena baino murritzagoa zen (Ahn et al., 2019; Baum eta Ford, 2004; Chu eta Ohinmaa, 2016; Mason, 2012; Perks, 2012). Aldiz, gizonengan GMI-a igotzearekin batera soldata igotzen zen (Ahn et al., 2019; Perks, 2012), edota gainpisuak nahiz obesitateak soldatarekin harremanik ez zuela aurkitu izan zen (Baum eta Ford, 2004; Chu eta Ohinmaa, 2016; Mason, 2012). Ildo beretik, obesitatea zuten gizonengan lan-bilaketak edota lan-esperientziak soldata igoera bat ekartzen ziela ikusi zen; aldiz, ez zen halakorik aurkitu obesitatea zuten emakumeengan (Ahn et al., 2019; Mason, 2012).

Bestalde, bi ikerketek kontratatuak izateko probabilitatearen bidez ebaluatu zuten balizko pisu-estigma (Ahn et al., 2019; Asgeirsdottir, 2011), eta bietan berdina aurkitu zen: emakumeentzat, gehiegizko pisua modu negatiboan korrelazionatuta zegoen lanarekin, eta, aldiz, kontrakoa gertatzen zen gizonengan.

Pisu-estigma inplizitua: Hautemandako pisu-estigma

Hainbat lanetan pertsonen auto-erregistroak erabili zituzten bizitzan zeharreko nahiz pertsona arteko pisu-estigma jaso ahal izateko. Zehazki, lau ikerketek osasun zerbitzuetako esperientziak bildu zituzten (Breland et al., 2019; Hansson et al., 2010; Himmelstein eta Puhl, 2021; Phelan et al., 2018). Breland et al.-ek (2019) lehen nahiz hirugarren mailako obesitatea zuten gizonek kategoria bereko emakumeek baino esperientzia hobeak (osasun mentalerako aholkularitza, bulegoko pertsonen jarrera, emaileekin komunikazioa…) bizi izan zituztela aurkitu zuten. Aldiz, Phelan et al.-ek (2018) emakumeen aldeko genero-ezberdintasuna aurkitu zuten, non hirugarren mailako obesitatean emakumeek lau aldiz aukera gehiago zituzten pazientean zentratutako komunikazio esperientziak adierazteko, kontrakoa gertatzen zen bitartean gizonen kasuan.

Hala ere, Phelan et al. (2018) izan ziren gizonengan diskriminazio-indize altuagoa aurkitu zuen lan bakarra. Izan ere, gainontzeko ikerketetan, gainpisua edo obesitatea zuten emakumeek kategoria bereko gizonek baino diskriminazio altuagoa bizi zutela azaleratu zen bizitzako alor ezberdinetan (Falkner et al., 1999; Hansson et al., 2010; Puhl et al., 2008; Roehling et al., 2007; Sikorski et al., 2015). Besteak beste, Falkner et al.-ek (1999) emakumeek ezezagun batengandik pisu-estigma jasotzeko gizonek baino hiru aldiz joera handiagoa zutela aurkitu zuten, eta gehiegizko pisua zuten parte-hartzaileen artean, emakumeek joera hirukoitza zuten pisu-estigma egoerak salatzeko (Puhl et al., 2008; Sikorski et al., 2015).

Beste estigma iturriak

Hiru ikerketek pisu-estigma ebaluatzeko aurretik aipatu ez diren beste aldagaiak erabili zituzten (Bernard et al., 2019; Hajek eta König, 2021; Randall et al., 2017). Zehazki, Bernard et al.-ek (2019) eta Randall et al.-ek (2017) parte-hartzaileek ezaugarri zehatz batzuk zituzten pertsonekiko adierazten zituzten laguntza-jokabideez baliatu ziren. Artikuluon emaitzei dagokienez, lehenengoak generoaren araberako ezberdintasun esanguratsurik aurkitu ez zuen arren, bigarren artikuluan obesitate itxura zuen emakumeak lagundua izateko beste edozein itxurako pertsonak baino probabilitate gutxiago zuela aurkitu izan zen.

Bukatzeko, Hajek-ek eta König-ek (2021) obesitatearen hasiera eta amaiera bakardade-igoerarekin erlazionaturik ote dagoen aztertu zuten 50 urtetik gorako pertsonengan. Emakumeentzat obesitatea edukitzea bakardadean igoera batekin erlazionaturik zegoen bitartean, gizonentzat bakardadean jaitsiera batekin erlazionatuta zegoela ikusi zen.

4. Ondorioak

Berrikuspen honen helburua gainpisua edo obesitatea duten pertsonek bizi duten pisu-diskriminazioan generoak betetzen duen papera aztertzea izan da. Izan ere, lan honen sarreran aipatu den bezala, obesitateari dagozkion genero-ezberdintasunak ulertzeak (fisiologikoak, psikologikoak, sozialak) obesitatearen tratamenduan eragin garrantzitsua izan dezake, baita egoera honen prebentzio nahiz kudeaketarako esku-hartzeetan ere (Kapoor et al., 2021). Hori kontuan izanda, berrikuspen honetan pisu-estigmaren indikatzaile ezberdinak aztertu zituzten artikuluak barne hartu (hauetan sexuen arteko alderaketa egin izan zelarik), eta ondoren emaitzak aztertu ziren.

Espero bezala, artikulu gehienetan gainpisua edo obesitatea zuten emakumeek GMI kategoria baxuagoko emakumeekin alderatuta pisuaren ondoriozko diskriminazioa bizitzeaz gain, kategoria bereko gizonek baino kalte handiagoak jasotzen zituztela aurkitu izan da. Hain zuzen ere, lan-testuinguruan aztertutako artikulu guztietan gainpisua edo obesitatea zuten emakumeek soldata murritzagoa edota kontratatuak izateko probabilitate baxuagoa zutela aurkitu izan da. Diskriminazio egoerak, halaber, osasun zerbitzuetan nahiz pertsona arteko egoeretan aurkitu izan dira. Aurkikuntza hauek bat egiten dute 2020an argitaratutako berrikuspen batekin, non emakumeek gizonek baino pisu-diskriminazio gehiago jasotzeko joera dutela ezarri zen, horrek lan- nahiz hezkuntza-arloan ezberdintasunak areagotzeko potentziala zuela adieraziz (Rubino et al., 2020). Diskriminazioak hura jasaten duten pertsonen osasun fisiko nahiz mentalean ondorio kaltegarriak dituela kontuan hartuz, berrikuspen honek gizartean oraindik presente dagoen behar bat nabarmentzen du: pisu-estigmaren ondoriozko diskriminazioa bizi duten pertsonenganako arreta, hain zuzen ere, bereziki emakumeengan zentratuz. Izan ere, ikus daitekeen bezala, estigma mota hau bizitzako alor nahiz momentu ezberdinetara hedatzen da.

Aurkikuntzekin jarraituz, kontuan hartzekoa da emakumeen pisu-egoera areagotzearekin batera hauek jasaten zuten pisu-estigmak ere gora egiten zuela, muturreko obesitatea zutenek beste obesitate-kategorietako emakumeek baino estigma-maila altuagoa jasoz. Aurkikuntza horrek bat egiten du obesitate kategoria altuenetako emakumeek diskriminazio-tasa altuenak jasotzen dituztelako ebidentziekin (Dutton et al., 2014; Spahlholz et al., 2016). Obesitate-tasak areagotzen ari diren garai batean, eta emakumeek hura nahiz horri lotutako erikortasunak garatzeko joera handiagoa daukaten neurrian (Cooper et al., 2021), lan honek obesitatearen tratamenduan ikuspegi osatua barneratzeko garrantzia azpimarratzen du, diskriminazioaren eraginak ere kontuan hartuz. Izan ere, sinesmen orokorraren aurka (O'Keeffe et al., 2020), obesitatearen garapen nahiz mantentzean faktore biopsikosozial ezberdinek parte hartzen dute, eta hauen ondorioak nabarmenagoak dira emakumeengan gizonengan baino (Cooper et al., 2021).

Laburbilduz, lan honek pisu-estigmaren barruan existitzen diren genero-ezberdintasunen inguruko frogak bildu egiten ditu, gehiegizko pisua duten emakumeek tratu desorekatua jasotzen duten heinean haiengan zentratutako esku-hartzeak (indibidualak nahiz komunitatekoak) ezberdinak ere izan beharko liratekeen ebidentziak babestuz. Hainbat muga dituen arren, lan honek gaur egun oraindik Mendebaldeko gizartean zabalduta dagoen eta osasun fisiko nahiz mentalarentzat ondorio kaltegarriak dituen errealitate bat nabarmentzen du, hura bizi duten pertsonenganako arreta, esku-hartze, kontsulta nahiz tratamenduetan ikuspegi osatuagoa barneratzea sustatuz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Interesgarria litzateke etorkizuneko berrikuspenetan pisuaren ondoriozko estigma beste kultura batzuetan aztertzea, ez soilik estigma mota honen ikuspegi globalagoa lortzeko, baita aldagai sozialek estigma mota honetan jokatzen duten papera kontrastatzeko ere. Halaber, aipatutako testuinguruez gain, etorkizuneko ikerketa-alor gehiago egon daitezke aztertzeko, esaterako, salerosketa testuinguruak pertsona arteko egoeren barruan, edota iragarkiak eta sare sozialak komunikabideen barruan. Are gehiago, orain arte bikote-harremanetan aztertutako pisu-diskriminazioa bikote heterosexualetara mugatu izan da (besteak beste, Boyes eta Latner, 2009; Chen eta Brown, 2005; Conley eta McCabe, 2011), genero-ezberdintasun esanguratsuak aurkituz. Beraz, etorkizunerako norabide berri bat pisu-estigma bikote ez-heterosexualetan ikertzea izan ahalko litzateke.

Azkenik, lan honetan aurkitutako pisu-estigma bizipenek emakumeen nahiz gizonen osasun mentalean izan dezaketen eragina aztertzea etorkizuneko ikerketa-lerro garrantzitsua izango litzateke. Izan ere, jada aipatu den moduan, diskriminazio hau jasateak ondorio kaltegarriak ditu pertsonen egoera fisiko nahiz psikologikoan (Emmer et al., 2020; Pearl eta Puhl, 2018), eta genero-ezberdintasunek hori larriagotu dezaketen neurrian, beharrezkoa litzateke genero eta pisu-estigmaren arteko elkarrekintzak osasun mentalari eragiten dion moduari buruzko ezagutzak biltzea. Modu horretan, bi motatako diskriminazioa jasateak ekartzen dituen ondorioen ezagutza sakonagoa lortu ahalko litzateke, hortik abiatuta gehiegizko pisua daukaten emakumeei bideratutako esku-hartze psikologikoak espezifikoagoak bihurtuz.

6. Erreferentziak

*Ahn, R., Kim, T. H., eta Han, E. (2019). The moderation of obesity penalty on job market outcomes by employment efforts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(16), 2974. https://doi.org/10.3390/ijerph16162974

*Asgeirsdottir, T. L. (2011). Do body weight and gender shape the work force? The case of Iceland. *Economics and Human Biology*, *9*(2), 148–156. https://doi.org/10.1016/j.ehb.2010.12.001

Azarbad, L., eta Gonder-Frederick, L. (2010). Obesity in women. *Psychiatric Clinics of North America*, *33*(2), 423–440. https://doi.org/10.1016/j.psc.2010.01.003

*Baum, C. L., eta Ford, W. F. (2004). The wage effects of obesity: A longitudinal study. *Health Economics*, *13*(9), 885–899. https://doi.org/10.1002/hec.881

*Bernard, M., Riedel-Heller, S. G., eta Luck-Sikorski, C. (2019). Altruistic behavior depending on opponents' body weight: An experimental approach. *Obesity Facts*, *12*(4), 448–459. https://doi.org/10.1159/000501318

Boyes, A. D., eta Latner, J. D. (2009). Weight stigma in existing romantic relationships. *Journal of Sex and Marital*

Therapy, *35*(4), 282–293. https://doi.org/10.1080/00926230902851280
*Breland, J. Y., Wong, M. S., Frayne, S. M., Hoggatt, K. J., Steers, W. N., Saechao, F., eta Washington, D. L. (2019). Obesity and health care experiences among women and men veterans. *Women's Health Issues*, *29*, S32–S38. https://doi.org/10.1016/j.whi.2019.04.005
*Busetta, G., Campolo, M. G., eta Panarello, D. (2020). Weight-based discrimination in the Italian labor market: an analysis of the interaction with gender and ethnicity. *The Journal of Economic Inequality*, *18*(4), 617–637. https://doi.org/10.1007/s10888-020-09456-5
Carr, D., eta Friedman, M. A. (2005). Is obesity stigmatizing? Body weight, perceived discrimination, and psychological well-being in the United States. *Journal of Health and Social Behavior*, *46*(3), 244–259. https://doi.org/10.1177/002214650504600303
*Cassiano, G. S., Carvalho-Ferreira, J. P., Buckland, N. J., Ulian, M. D., eta da Cunha, D. T. (2022). Are dietitians with obesity perceived as competent and warm? Applying the stereotype content model to weight stigma in Brazil. *Frontiers in Nutrition*, *9*, 813344. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.813344
Chen, E. Y., eta Brown, M. (2005). Obesity stigma in sexual relationships. *Obesity Research*, *13*(8), 1393–1397. https://doi.org/10.1038/oby.2005.168
Chooi, Y. C., Ding, C., eta Magkos, F. (2019). The epidemiology of obesity. *Metabolism Clinical and Experimental*, *92*, 6–10. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.09.005
*Chu, F., eta Ohinmaa, A. (2016). The obesity penalty in the labor market using longitudinal Canadian data. *Economics and Human Biology*, *23*, 10–17. https://doi.org/10.1016/j.ehb.2016.06.002
Conley, D., eta McCabe, B. J. (2011). Body mass index and physical attractiveness: Evidence from a combination image-alteration/list experiment. *Sociological Methods & Research*, *40*(1), 6–31. https://doi.org/10.1177/0049124110390762
Cooper, A. J., Gupta, S. R., Moustafa, A. F., eta Chao, A. M. (2021). Sex/Gender differences in obesity prevalence, comorbidities, and treatment. *Current Obesity Reports*, *10*(4), 458–466. https://doi.org/10.1007/s13679-021-00453-x
Dutton, G. R., Lewis, T. T., Durant, N., Halanych, J., Kiefe, C. I., Sidney, S., Kim, Y., eta Lewis, C. E. (2014). Perceived weight discrimination in the CARDIA study: Differences by race, sex, and weight status. *Obesity*, *22*(2), 530–536. https://doi.org/10.1002/oby.20438
Emmer, C., Bosnjak, M., eta Mata, J. (2020). The association between weight stigma and mental health: A meta-analysis. *Obesity Reviews*, *21*(1), e12935. https://doi.org/10.1111/obr.12935
*Falkner, N. H., French, S. A., Jeffery, R. W., Neumark-Sztainer, D., Sherwood, N. E., eta Morton, N. (1999). Mistreatment due to weight: Prevalence and sources of perceived mistreatment in women and men. *Obesity Research*, *7*(6), 572–576. https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1999.tb00716.x
*Flint, S. W., Cadek, M., Codreanu, S. C., Ivic, V., Zomer, C., eta Gomoiu, A. (2016). Obesity discrimination in the recruitment process: "You're not hired!" *Frontiers in Psychology*, *7*, 647. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.00647
Garvey, W. T., eta Mechanick, J. I. (2020). Proposal for a scientifically correct and medically actionable disease classification system (ICD) for obesity. *Obesity*, *28*(3), 484–492. https://doi.org/10.1002/oby.22727
*Giel, K. E., Zipfel, S., Alizadeh, M., Schäffeler, N., Zahn, C., Wessel, D., Hesse, F. W., Thiel, S., eta Thiel, A. (2012). Stigmatization of obese individuals by human resource professionals: An experimental study. *BMC Public Health*, *12*, 525. https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-525
*González-García, D. A., eta Acuña, L. (2014). Aceptación y rechazo social hacia personas de distintas tallas corporales. *Revista Mexicana de Psicologia*, *31*(1), 58–70.
*Hajek, A., eta König, H. H. (2021). Asymmetric effects of obesity on loneliness among older Germans. Longitudinal findings from the Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe. *Aging and Mental Health*, *25*(12), 2293–2297. https://doi.org/10.1080/13607863.2020.1822285
*Hansson, L. M., Näslund, E., eta Rasmussen, F. (2010). Perceived discrimination among men and women with normal weight and obesity. A population-based study from Sweden. *Scandinavian Journal of Public Health*, *38*(6), 587–596. https://doi.org/10.1177/1403494810372266
*Harris, M. B., Harris, R. J., eta Bochner, S. (1982). Fat, four-eyed, and female: stereotypes of obesity, glasses, and gender. *Journal of Applied Social Psychology*, *12*(6), 503–516. https://doi.org/10.1111/j.1559-1816.1982.tb00882.x
*Himmelstein, M. S., eta Puhl, R. M. (2021). At multiple fronts: Diabetes stigma and weight stigma in adults with type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*, *38*(1), e14387. https://doi.org/10.1111/dme.14387
*Jasper, C. R., eta Klassen, M. L. (1990). Stereotypical beliefs about appearance: Implications for retailing and consumer issues. *Perceptual and Motor Skills*, *71*(2), 519–528. https://doi.org/10.2466/pms.1990.71.2.519
Kapoor, N., Arora, S., eta Kalra, S. (2021). Gender disparities in people living with obesity-An unchartered territory. *Journal of Mid-Life Health*, *12*(2), 103–107. https://doi.org/10.4103/jmh.jmh-48-21
*Mason, K. (2012). The unequal weight of discrimination: Gender, body size, and income inequality. *Social Problems*, *59*(3), 411–435. https://doi.org/10.1525/sp.2012.59.3.411
*Musher-Eizenman, D., eta Carels, R. A. (2009). The impact of target weight and gender on perceptions of

likeability, personality attributes, and functional impairment. *Obesity Facts*, *2*(5), 311–317. https://doi.org/10.1159/000235915

*Obara, A. A., Vivolo, S. R. G. F., eta Alvarenga, M. D. S. (2018). Weight bias in nutritional practice: a study with nutrition students. *Cadernos de Saude Publica*, *34*(8), e00088017. https://doi.org/10.1590/0102-311x00088017

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., … Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. In *Medicina Fluminensis* (Vol. 57, Issue 4, pp. 444–465). https://doi.org/10.21860/medflum2021_264903

Pearl, R. L., eta Puhl, R. M. (2018). Weight bias internalization and health: a systematic review. *Obesity Reviews*, *19*(8), 1141–1163. https://doi.org/10.1111/obr.12701

*Perks, T. (2012). Physical capital and the embodied nature of income inequality: Gender differences in the effect of body size on workers' incomes in Canada. *Canadian Review of Sociology*, *49*(1), 1–25. https://doi.org/10.1111/j.1755-618X.2011.01278.x

*Phelan, S. M., Lynch, B. A., Blake, K. D., Blanch-Hartigan, D., Hardeman, R., Wilson, P., Branda, M., eta Finney Rutten, L. J. (2018). The impact of obesity on perceived patient-centred communication. *Obesity Science and Practice*, *4*(4), 338–346. https://doi.org/10.1002/osp4.276

*Pingitore, R., Dugoni, B. L., Tindale, R. S., eta Spring, B. (1994). Bias against overweight job applicants in a simulated employment interview. *Journal of Applied Psychology*, *79*(6), 909–917. https://doi.org/10.1037/0021-9010.79.6.909

*Puhl, R. M., Andreyeva, T., eta Brownell, K. D. (2008). Perceptions of weight discrimination: Prevalence and comparison to race and gender discrimination in America. *International Journal of Obesity*, *32*(6), 992–1000. https://doi.org/10.1038/ijo.2008.22

Puhl, R. M., eta Heuer, C. A. (2010). Obesity stigma: Important considerations for public health. *Public Health*, *100*(6), 1019–1028. https://doi.org/10.2105/AJPH.2009.159491

*Puhl, R. M., Wharton, C., eta Heuer, C. (2009). Weight bias among dietetics students: Implications for treatment practices. *Journal of the American Dietetic Association*, *109*(3), 438–444. https://doi.org/10.1016/j.jada.2008.11.034

*Randall, J. G., Zimmer, C. U., O'Brien, K. R., Trump-Steele, R. C. E., Villado, A. J., eta Hebl, M. R. (2017). Weight discrimination in helping behavior. *Revue Europeenne de Psychologie Appliquee*, *67*(3), 125–137. https://doi.org/10.1016/j.erap.2017.02.002

*Roehling, M. V., Roehling, P. V., eta Pichler, S. (2007). The relationship between body weight and perceived weight-related employment discrimination: The role of sex and race. *Journal of Vocational Behavior*, *71*(2), 300–318. https://doi.org/10.1016/j.jvb.2007.04.008

Rubino, F., Puhl, R. M., Cummings, D. E., Eckel, R. H., Ryan, D. H., Mechanick, J. I., Nadglowski, J., Ramos Salas, X., Schauer, P. R., Twenefour, D., Apovian, C. M., Aronne, L. J., Batterham, R. L., Berthoud, H.-R., Boza, C., Busetto, L., Dicker, D., De Groot, M., Eisenberg, D., … Dixon, J. B. (2020). Joint international consensus statement for ending stigma of obesity. *Nature Medicine*, *26*(4), 485–497. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0803-x

*Sikorski, C., Spahlholz, J., Hartlev, M., eta Riedel-Heller, S. G. (2015). Weight-based discrimination: An ubiquitary phenomenon? *International Journal of Obesity*, *40*(2), 333–337. https://doi.org/10.1038/ijo.2015.165

Spahlholz, J., Baer, N., König, H.-H., Riedel-Heller, S. G., eta Luck-Sikorski, C. (2016). Obesity and discrimination - a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Obesity Reviews*, *17*(1), 43–55. https://doi.org/10.1111/obr.12343

Sutin, A. R., Stephan, Y., Luchetti, M., eta Terracciano, A. (2014). Perceived weight discrimination and C-reactive protein. *Obesity*, *22*(9), 1959–1961. https://doi.org/10.1002/oby.20789

*Waller, T., Lampman, C., eta Lupfer-Johnson, G. (2012). Assessing bias against overweight individuals among nursing and psychology students: An implicit association test. *Journal of Clinical Nursing*, *21*(23–24), 3504–3512. https://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2012.04226.x

Oharra: * daukaten artikuluak berrikuspen sistematiko hau egiteko erabiliak izan dira.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Psikologiako Gradu Amaierako lan batetik eratorria da, eta 2021-2022ko Deialdiko Hezkuntza eta Formakuntza Profesional Ministerioko Kolaborazio Bekaren pean gauzatu da.

Omega-3en propietate onuragarriak alkoholak nerabezaroan eragiten dituen kalteak berreskuratzeko C57BL6/J sagu arretan

Maitane Serrano[1,2], Leire Lekunberri[1,2], Amaia Mimenza[1,2], Miquel Saumell-Esnaola[3,4], Gontzal García del Caño[3,4], Edgar Soria-Gomez[1,2,5], Garazi Ocerin[1], Itziar Bonilla-Del Rio[1,2], Nagore Puente[1,2], Almudena Ramos-Uriarte[1,2], Inmaculada Gerrikagoitia[1,2], Izaskun Elezgarai[1,2], Irantzu Rico-Barrio[1,2], Pedro Grandes[1,2].

(1)Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia), (2)Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHUko Zientzia Parkea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia, (3) Bioaraba, Neurofarmakologia Zelularra eta Molekularra, (4) Neurozientziak Saila. Farmazia Fakultatea (UPV/EHU, Gasteiz, Araba), (5) Ikerbasque, Basque Foundation for Science

maitane.serrano@ehu.eus

Laburpena

Alkohola nerabezaroan kontsumitzeak kalte anitzak dakartza, bereziki hipokanpoko endokannabinoide sisteman eta, ondorioz, oroimenean. Omega-3 gantz-azidoek sistema endokannabinoidearen bidez onurak eragiten dituzte oroimenean. Gainera, alkoholak eragiten dituen hainbat kalte berreskuratu ditzakete, izan ere, jaioaurreko alkohol esposizioak neuronen plastikotasunean eragiten dituen kalteak berreskuratzen dituzte. Azterlan honen helburua omega3-an aberastutako dietak nerabezaroan alkohola edateak oroimenean eragin dituen kalteak berreskuratzeko tratamendu aproposa den aztertzea da. Baita horren azpian ezkutatzen diren hipokanpoko endokannabinoide sistemari lotutako mekanismo molekularrak ikertzea ere.

Hitz gakoak: alkohola; hipokanpoa; omega-3; endokannabinoide-sistema.

Abstract

Alcohol consumption during adolescence impairs the endocannabinoid system of the hippocampus and, therefore, memory. Omega-3 fatty acids are polyunsaturated fatty acids (PUFAs) that improve memory by acting on the endocannabinoid system and recover neural plasticity disrupted by prenatal alcohol exposure. The aim of this investigation is to analyze 1) if an omega-3 enriched diet ameliorates the long-term memory deficits caused by adolescent alcohol intake, and 2) to study the endocannabinoid-mediated mechanisms underlying the omega-3 effects in the hippocampus.

Keywords: alcohol; hippocampus; omega-3; endocannabinoid system.

1. Sarrera eta motibazioa

Alkohola mundu mailan gehien kontsumitzen den substantzia psikoaktiboa da, izan ere, Munduko Osasun Erakundeak argitaratutako datuen arabera, 2018an, Europan, 15 urtetik gorako populazioaren % 59,9 alkohol-kontsumitzaile ohikoa zen. Gainera, alkoholak urtero mundu osoko heriotzen % 5,3-a eragiten du; 3 milioi hildako gutxi gorabehera (Munduko Osasun Erakundea, 2018). Euskal Autonomia Erkidegoari dagokionez, 2017. urtean 15 urtetik gorako populazioaren % 66,3rentzat ohikoa da alkohola astebururo kontsumitzea. Gainera, alkohol kontsumoa nerabezaroan hasten da, 16,8 urterekin hain zuzen ere (Eusko Jaurlaritza, 2017). Nerabezaroa hazkuntza garaia da oraindik eta, beraz, alkohol kontsumoak ondorio bereziki larriak ditu garai honetan, bai maila fisikoan, zein emozionalean eta portaeran ere bai (Munduko Osasun Erakundea, 2018). Hain zuzen ere, nerabezaroan alkohola edateak hipokanpoko neurogenesiaren murrizketaz gain, zelula heriotza handitzen du eta plastikotasun sinaptikoa kaltetzen du, oroimena kaltetuz (Broadwater et al., 2014; Drissi et al., 2019).

Endokannabinoide-sistema nerbio-sistema zentralaren garapenean, plastikotasun sinaptikoan eta kanpo- nahiz barne-inguruneko estimuluen erantzunean parte hartzen duen neuromodulazio sistema da. Endokannabinoide-sistema kannabinoide hartzailez, endokannabinoidez eta azken horiek sortu eta degradatzeko entzimaz osatuta dago. Hartzaileen kasuan, CB1-a da erdiko nerbio sisteman adierazten den hartzailerik garrantzitsuena (Lu & Mackie, 2016). Alkohol kontsumoak endokannabinoide seinalizazioan kalteak eragiten ditu, besteak beste, gure laborategian frogatu

izan da nerabezaroan alkohola edateak CB1 hartzaileak bideratzen duen plastikotasun sinaptikoa kaltetzen duela (Peñasco et al., 2020), hau da, neuronen arteko elkarrekintzak kaltetzen dituela.

Omega-3ak lipidoak osatzen dituzten gantz-azido (GA) asegabeak dira eta horien artean, azido dokosahexaenoikoa (DHA) eta azido eikosapentaenoikoa (EPA) aurkitzen dira. Aipatu beharra dago lipido horiek esentzialak direla, hau da, dietaren bidez bereganatu behar ditugula.Gaur egungo mendebaldeko dieta jarraituz nekez betetzen ditugu beharrak. DHA garunean aurkitzen den GA poliasegabe ugariena da, izan ere, funtsezko betebeharrak betetzen ditu, besteak beste, sinapsien eta neuronen sorkuntzan eta migrazioan parte hartzen du. Gainera, zelula lipidoek mintzak osatzen dituztenez horien fluidotasunean eragiten dute. Horrexegatik, omega-3ek neuronen seinale-transdukzioan eta mintzari lotutako hartzaile, ioi-kanal eta entzimen aktibitatean eragiten dute (Gil Hernandez, 2017). Endokannabinoide sisteman eraginez oroimena espaziala hobetzen dutela frogatu izan da (Pan et al., 2011). Hori gutxi balitz, omega-3an aberastutako dietak jaioaurreko alkohol esposizioak iraupen luzeko potentziazioan (ILP) eragiten dituen kalteak berreskuratzeko gai da (Patten et al., 2013).

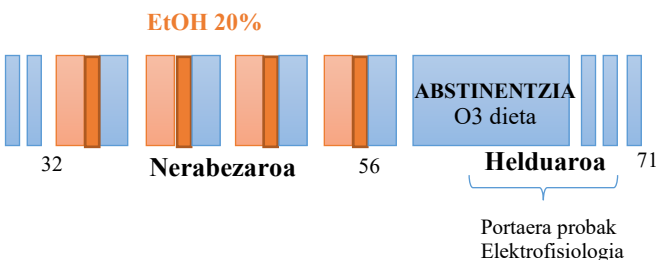
2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Alkoholaren eta omega-3en arteko erlazio estua frogatu da. Izan ere, alkoholak DHA mailak jaitsiarazten ditu (Tajuddin et al., 2014), baina, era berean, omega-3ek jaio aurreko alkohol esposizioak eragindako hipokanpoko plastikotasun arazoak berreskuratzen ditu (Patten et al., 2013), hau da, neuronen moldatzeko gaitasuna. Ez hori bakarrik, omega-3 GAek endokannabinoideen aitzindariak direla frogatu da (Dyall, 2017). Gainera, EPAk endokannabinoide hartzaileen bidez neuronen proliferazioa handitzen du (Dyall et al., 2016).

Omega-3en onura ugari frogatu diren arren, nerabezaroko alkohol esposizioak eragiten dituen kalteak emendatzeko osagarri aproposa den aztertzeke dago oraindik. Horrexegatik, ikerketa honen helburu nagusiak bi dira. Alde batetik, omega-3ek alkoholak ikasketa ahalmenean eta oroimenean eragindako kalteak berreskuratzeko gai den aztertzea. Bestalde, ikasketa eta oroimenean inplikatuta dauden hipokanpoko endokannabinoide sistema aztertzea, omega-3 GAak dituzten eragina ikertzeko.

3. Ikerketaren muina

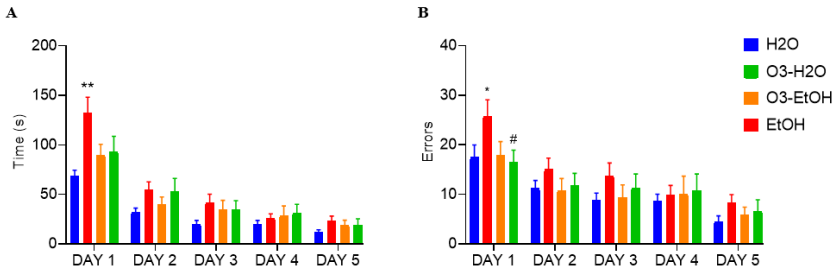
1. Irudia. Diseinu esperimentalaren eskema: Lau astetan zehar lau egunez astean alkoholarekiko esposizioa jarraitzen dute eta ostean, abstinentzia aldianomega-3an aberastutako dieta.



Ikerlan honen helburuak aztertzeko, C57BL/6J ar saguek nerabezaroan zehar alkohol/ur edateko ilunpeko protokoloan barneratzen dira. Horretan, 4 astetan zehar (jaio osteko 32. egunetik 56. egunera arte) hiru egunez bi ordutan zehar eta laugarren egunean lau orduz alkohola %20an (EtOH taldea) edo ura (H2O taldea) era askean edateko ipintzen zaie. Ostean, helduaro goiztiarrean (jaio osteko 57. egunetik 71. egunera arte), animalien erdiari omega-3an aberastutako dieta ezartzen zaie (O3EtOH eta O3H2O taldeak). Abstinentzia aldi honen amaieran portaera probak eta elektrofisiologia esperimentuak burutzen dira, alkoholaren zein dietaren efektuak aztertzeko asmoarekin (1. irudia).

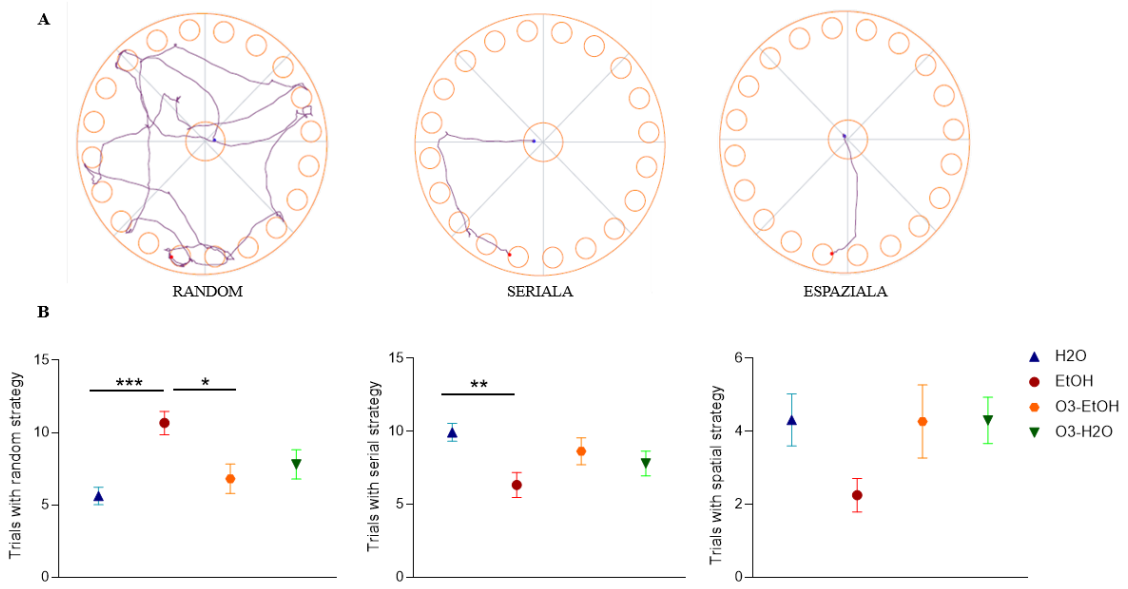
3.1 Barnes labirintoaren portaera froga

2. Irudia. Barnes labirintoaren portaera proba, n=12. A) Beharreko denbora kutxa aurkitzeko B) Begiratutako zulo kopurua kutxa aurkitu aurretik. *#p<0,05; **p<0,01.Balioak bide bakarreko ANOVAren bitartez analizatu dira.



Ikasketa ahalmena eta oroimen espaziala zein prozedimentala ebaluatzeko barnes portaera proba erabiltzen da. Portaera proba honetan, gela baten erdian 20 zulo periferiko dituen mahai bat kokatzen da, eta sagu bakoitzari zulo bat ezartzen zaio, zeinen azpian kutxa bat

3. Irudia. Barnes portaera probako estrategiak, n=12. A) Estrategien eskema B) Random estrategia erabilitako aldi kopurua C) Estrategia seriala erabilitako aldi kopurua B) Estrategia espaziala erabilitako aldi kopurua. *#p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. Balioak bide bakarreko ANOVAren bitartez analizatu dira.



kokatuko den. Gainera, gelako paretetan kolore ezberdinak dituzten hainbat ikur daude, argibide bisual gisa. Horrela, 5 egunetan zehar, 4 aldiz egunean, saguek kutxa aurkitu beharko dute. Saiakera bakoitzean, 4 minutu edukiko dute gehienez. Portaera proba honetan analizatuko diren parametroak:Kutxa aurkitzeko eta denboraz gain, kutxa aurkitu aurretik bisitatutako zulo kopurua eta erabilitako estrategia izango dira. Estrategiei dagokienez, zuloa ausaz aurkitzen badute random estrategia izango da, zuloak banan-banan begiratzen badituzte estrategia seriala, oroimen prozedimentalarekin lotura estua duena, eta argibide bisualak erabiliz kutxa zuzenean aurkituz gero estrategia espaziala izango da.

Denborari dagokionez, lehenengo egunean EtOH taldeak H2O taldeak baino denbora gehiago behar du kutxa aurkitzeko eta egun horretan bertan H2O eta O3-H2O taldeak baino zulo gehiago begiratzen ditu kutxa aurkitzeko (2. irudia). Erabilitako estrategien kasuan, EtOH taldeak H2O eta O3-EtOH taldeak baino gehiago erabiltzen du random estrategia eta H2O taldeak baino gutxiago estrategia seriala. Estrategia espazialaren kasuan ezberdintasun esanguratsurik ez egon arren, EtOH taldeak estrategia mota hau beste taldeak baino gutxiago erabiltzen dutelaren tendentzia argia dago (3. irudia). Hortaz, alkoholak memoria kaltetzen duen arren, omega-3an aberastutako dietak kalte horiek berreskuratzen ditu.

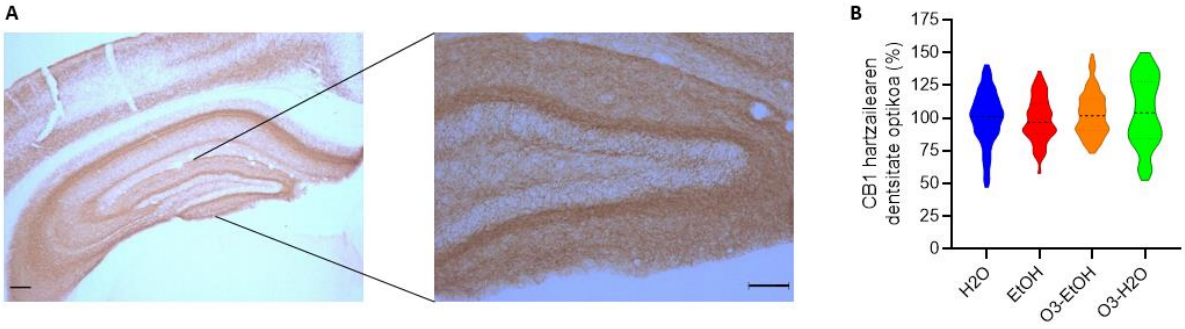
3.2 Analisi molekularra

CB1-aren dentsitate optikoaren aldaketa eza hortz-bihurgunean:

Lehenengo eta behin, animaliak anestesiatu eta garunak fixatzeko asmoarekin bihotz zeharreko perfusioa egingo da. Ondoren, bibratomoaren bidez 45 µm-ko koroa-ebaketak egiten dira. Tindaketa egiteko, talde esperimental bakoitzeko hiru sagu erabiltzen dira. Horretarako, ebaketak ordu erdiz blokeo soluzioan inkubatu eta anti-CB1 ahuntz antigorputz poliklonal primarioarekin (2 µg/mL) inkubatzen dira egun batez giro-tenperaturan. Hurrengo egunean, laginak ordu betez anti-ahuntz zaldi G-immunoglobulina sekundarioan (1:200) inkubatzen dira giro tenperaturan. Ostean, seinalea anplifikatzeko ordu betez inkubatzen dira laginak abidina-biotina konplexuarekin, eta %0,05 diaminobenzidinarekin ipintzen dira kontaktuan 3 minutuz emaitzak errebelatzeko. Gero, ebaketak gelatinizatutako portetan kokatu eta hurrengo egunean, laginak deshidratatzeko asmoarekin portak alkohol kontzentrazio gorakorretan (%50, %70, %96 eta %100) eta xilolean 5 minutuz murgildu behar dira. Azkenik, DPX erretxina akrilikoa erabiliz estalkia ipintzen zaio portari eta horrela, mikroskopioan behatu daitezke. Argazkiak hipokanpoko geruza molekularrean atera dira 10X handipenean eta horiek baliatuta CB1 hartzailearen dentsitate optikoa neurtu da. ImageJ programa erabilita, argazkiak zuri-beltzean ipini eta intereseko zonaldean hiru neurketa egin dira. Ostean, datuak kontrol taldeko balioak erreferentzia gisa erabilita normalizatzen dira.

CB1-aren dentsitate optikoari dagokionez ez dago ezberdintasun esanguratsurik 4 taldeen artean. Izan ere, kontrol taldearen dentsitate optikoa %100,0 izanda, O3-H2O taldeak %104,6-ko dentsitatea dauka, EtOH taldeak %98,7-koa eta O3-EtOH taldeak %103,1-ekoa (4. irudia). Beraz, esan daiteke hipokanpoko geruza molekularrean CB1 hartzailearen mailan aldaketak ez daudela talde esperimentalen artean.

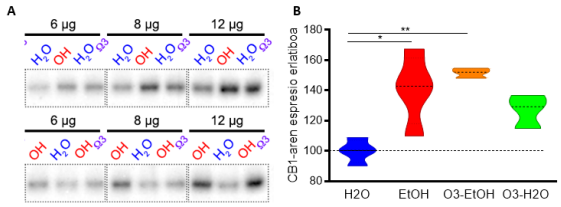
4. Irudia. Mikroskopia optikoa A) Hipokanpoko argazkiak 2,5X eta 10X handipenetan B) CB1 hartzailearen dentsitate optikoko datu normalizatuak. Balioak bide bakarreko ANOVAren bitartez analizatu dira. Scale bars: 2,5X 500µm, 10X 100µm.



CB1-aren igoera alkohola edan duten saguen hipokanpoko sinaptosometan:

Hasteko, animaliak dislokazio zerbikalaren bidez sakrifikatu eta garunak ateratzen dira. Ondoren, hipokanpoak disekzionatu eta talde esperimental berdineko 6 animalien hipokanpoak bateratzen dira. Hipokanpoak txikitu eta fosfato soluzio batekin nahasten dira. Gero, frakzionamendua egiten da, sinaptosomak, hau da, neuronen arteko sinapsia gertatzen den mintz-zelularraren atala banatzeko. Horretarako, zentrifugazio anitzak egiten dira, zeinetan fase ezberdinak lortuko ditugun, eta azkenik, sinaptosomak bereiziko ditugu. Behin sinaptosomak ditugula, Bradfford teknika erabiltzen da talde bakoitzeko sinaptosometan daukagun proteina kantitatearen estimazioa egiteko. Horretarako, patroi-zuzen bat sortzen dugu gamma-globulina proteinaren 7 kontzentrazio gorakor kargatuz 96 putzuetako ELISA plakan. Bertan, sinaptosomen laginak estimazio bidez diluitu eta kontzentrazio gorakorretan kargatuko dira. Jarraian, Dye Reagent tindatzailea gehitu eta 4 minutuz ingurumen tenperaturan inkubatu ondoren absorbantzia neurtzen da 595nm-ko uhin-luzeran.

5. Irudia. Western Blot bidez analizatutako sinaptosomen CB1. A)WB-aren irudia. B) CB1-aren espresio erlatiboaren balioak. *p<0,05; **p<0,01. Balioak bide bakarreko ANOVAren bitartez analizatu dira.



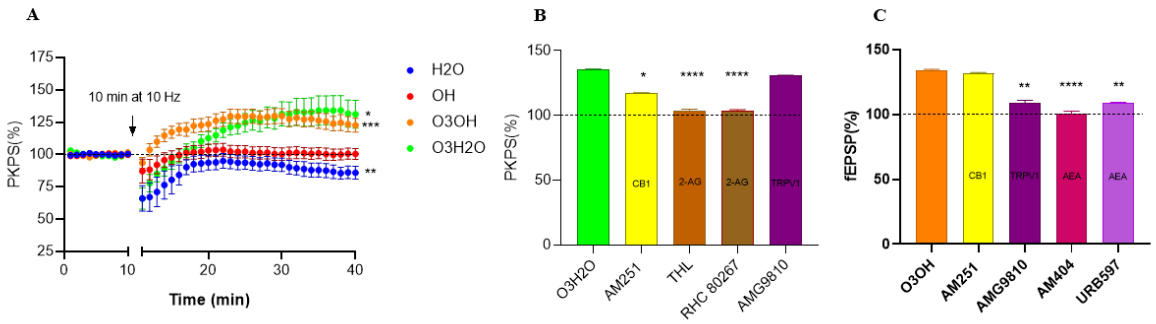
Western Blotak egiteko, sinaptosomak urea tanpoian solubilizatzen dira 1 µg/µL proteina kontzentrazioan eta 60ºC-tan berotu, proteinak desnaturalizatzeko. Ondoren, proteinak %10-eko SDS-poliakrilamida geletan pisu molekularraren arabera banatzen dira elektroforesiaren bidez, 90 minutuz 100 V-tan. Gero, gelean dauden proteinak PVDF mintzera transferitzen dira 30 V-tan 4ºC-tan gau osoan zehar. Hurrengo egunean, mintzak blokeo tanpoian giro tenperaturan ordubetez inkubatu ondoren, tanpoi horretan bertan diluitutako anti-CB1 untxi antigorputz poliklonal primarioarekin (1:1500) inkubatzen dira 4ºC-tan gau osoan zehar. Azken egunean, mintzak errefau-peroxidasarekin (HRP) konjugatutako anti-untxi ahuntz IgG sekundarioan (1:4000) 2 orduz giro tenperaturan inkubatu eta agente kimioluminizente batekin ipintzen dira kontaktuan. Mintzak errebelaketa gailuan kokatzen dira argazkiak ateratzeko. Ondoren, argazkiak ImageJ programa erabiliz analizatu eta banden dentsitate optikoa neurtzen da. Azkenik, datuak kontrol taldeko balioak erreferentzia gisa erabilita normalizatzen dira.

Kasu honetan, 4 taldeen artean CB1-aren sinaptosomen banden dentsitatean ezberdintasun esanguratsuak daude, izan ere, EtOH eta O3-EtOH taldeetan igoera esanguratsua dago H2O taldearekin alderatuta. Zehazki, kontrol taldearen balioak %100,0 izanda, O3-H2O taldeak %127-ko dentsitatea dauka, EtOH taldeak %140,8-koa eta O3-EtOH taldeak %151,7koa (5. irudia). Kasu honetan, hipokanpo osoko sinapsietan dagoen CB1-aren espresioa alkoholaren ondorioz handitu egiten da.

3.3 Elektrofisiologia bidezko analisi funtzionala

Ex-vivo elektrofisiologia esperimentuak egiteko, animalia anestesiatu eta sakrifikatu ostean garuna atera eta oxigenatutako likido zefalorrakideoaren antzekoa den soluzio batean murgiltzen da, neuronak bizirik mantentzeko asmoarekin. Ondoren, bibratomoaren bidez 300 µm-ko koroa-ebaketak egiten dira. Ebaketa horiek erabilita, hipokanpoko erdialdeko bide zulatzailean neurona

6. Irudia. Elektrofisiologia esperimentuak. A) Denbora zeharreko potentzial kitzikatzaile postsinaptikoaren (PKPS) grafika B) O3-H2O taldeko plastikotasunean parte hartzen duten hartzaile eta endokannabinoideak C) O3-EtOH taldeko plastikotasunean parte hartzen duten hartzaile eta endokannabinoideak (AM251: CB1 hartzailearen antagonista; AMG9810: TRPV1-aren antagonista; THL eta RHC 80267: DAGLren inhibitzileak; AM404: AEAren rekaptazioaren inhibitzailea; URB597: AEAren degradazioa bideratzen duen entzimaren inhibitzailea). *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001**p<0,0001. Balioak bide bakarreko ANOVAren bitartez analizatu dira.**



kitzikatzaileen iraupen luzeko plastikotasuna ikertzen da, hain zuzen ere, plastikotasun mota eta zein hartzaile bidez dagoen bideratuta. Horretarako, elektrodo kitzikatzailea erdialdeko bide zulatzailearen zuntzetan kokatzen da eta erregistrokoa hortz bihurguneko geruza molekularraren

barneko herenean; eta, hartzaile ezberdinen antagonistak erabilita, hartzaile ezberdinak blokeatuko ditugu, eta plastikotasuna galtzen bada, hartzaile horren parte hartzea frogatuko da. Gainera, maiztasun baxuko kitzikapen protokoloa (10minutu 10 Hz-tara) erabiliko dugu.

Aurretik, gure laborategian maiztasun baxuko kitzikapenaren protokoloa erabilita H2O taldeko saguek 2-arakidonoilglizerol (2-AG) kannabinoidea eta CB1 hartzailearen bidezko iraupen luzeko depresioaren (ILD) plastikotasuna daukatela frogatu da. Horrez gain, alkoholak plastikotasun hori kaltetzen duela behatu izan da (Peñasco et al., 2020). Kitzikapen protokolo berdina erabilita, O3-H2O nahiz O3-EtOH taldeek ILP erakusten dute. Hala ere, horren azpian inplikatutako mekanismoak ezberdinak dira. O3-H2O taldean 2-AG kannabinoidea eta CB1 hartzaileak bideratzen dute ILP-a. O3-EtOH taldearen kasuan, ordea, anandamidak (AEA) eta TRPV1-ak bideratzen dute (6. irudia).

4. Ondorioak

Alkohol kontsumoak, bereziki garapen garaian eragiten dituen kalteak argiak dira, izan ere, ikerketa anitzetan frogatu da portaeran eta oroimenean eragiten dituen epe-luzeko kalteak (Cantacorps et al., 2017; Crews et al., 2016; Drissi et al., 2019). Bestalde, in vitro nahiz in vivo omega-3 GAek, eta bereziki EPA eta DHAk, alkoholak eragiten dituen kalteak berreskuratzeko daukan gaitasuna frogatu da. Ikerketa horiek jaio aurreko alkohol esposizioak eragiten dituen kalteen berreskurapenera bideratu da batez ere, eta horietan bertan alkoholaren ondoriozko neuroendekapena zein neuronen plastikotasuna berreskuratu daitekeela ikusi da (Kusat Ol et al., 2016; Patten et al., 2013). Ikerketa honetan emaitzek ildo berdina jarraitzen dute; hain zuzen ere, nahiz eta nerabezaroko alkohol kontsumoak oroimena eta endokannabinoide sistemaren bidezko plastikotasuna kaltetu, omega-3an aberastutako dietak kalte horiek berreskuratzeko gai da.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Nerabezaroa garapen garaia da oraindik, zeinean garuna oraindik ere osatzen ari den, baina garai honetan da alkohol kontsumoa hasten den garaia hain zuzen ere (Eusko Jaurlaritza, 2017). Egoera horretan, omega-3an aberastutako dietak hainbat onura eragiten dituela frogatu da alkohol kontsumoaren ondorioz epe luzera sortutako ikasketa eta oroimena arazoak hobetuz.

Beraz, omega-3an aberastutako dieta nerabezaroan alkohol kontsumoak eragiten dituen epe luzeko kalteak leheneratzeko terapia ez farmakologiko aproposa izan daiteke. Hala ere, onura horien azpian ezkutatzen diren mekanismo zelularrak aztertzeko dago oraindik.

6. Erreferentziak

Broadwater, M., Liu, W., Crews, F. & Spear, L. P. (2014). Persisten loss of hippocampal neurogenesis and increased cell death following adolescent, but not adult, chronic ethanol exposure. *Developmental Neuroscience*, *36*(0), 297–305. https://doi.org/10.1159/000362874.Persistent

Cantacorps, L., Alfonso-Loeches, S., Moscoso-Castro, M., Cuitavi, J., Gracia-Rubio, I., López-Arnau, R., Escubedo, E., Guerri, C. & Valverde, O. (2017). Maternal alcohol binge drinking induces persistent neuroinflammation associated with myelin damage and behavioural dysfunctions in offspring mice. *Neuropharmacology*, *123*, 368–384. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.05.034

Crews, F., Vetreno, R., Broadwater, M. & Robinson, D. (2016). Adolescent alcohol exposure persistently impact adult neurobiology and behavior. *Pharmacological Reviews*, *68*(4), 1074–1109. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5050442/pdf/pr.115.012138.pdf

Drissi, I., Deschamps, C., Fouquet, G., Alary, R., Peineau, S., Gosset, P., Sueur, H., Marcq, I., Debuysscher, V., Naassila, M., Vilpoux, C. & Pierrefiche, O. (2019). Memory and plasticity impairment after binge drinking in adolescent rat hippocampus: GluN2A/GluN2B NMDA receptor subunits imbalance through HDAC2. *Addiction Biology*, *25*(3), 1–15. https://doi.org/10.1111/adb.12760

Dyall, S. C., Mandhair, H. K., Fincham, R. E. A., Kerr, D. M., Roche, M. & Molina-Holgado, F. (2016). Distinctive effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in regulating neural stem cell fate are mediated via endocannabinoid signalling pathways. *Neuropharmacology*, *107*, 387–395. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.03.055

Dyall, Simon C. (2017). Interplay Between n-3 and n-6 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and the

Endocannabinoid System in Brain Protection and Repair. *Lipids*, *52*(11), 885–900. https://doi.org/10.1007/s11745-017-4292-8

Eusko Jaurlaritza. (2017). *Encuesta sobre Adicciones Comunidad Autónoma de Euskadi*.

Gil Hernandez, A. (2017). *Tratado de Nutrición. Tomo III. Nutrición Humana en el Estado de Salud, Editorial Médica Panamericana, Madrid.*

Kusat Ol, K., Kanbak, G., Oğlakcı Ilhan, A., Burukoglu, D. & Yücel, F. (2016). The investigation of the prenatal and postnatal alcohol exposure-induced neurodegeneration in rat brain: protection by betaine and/or omega-3. *Child's Nervous System*, *32*(3), 467–474. https://doi.org/10.1007/s00381-015-2990-1

Lu, H.-C. & Mackie, K. (2016). An introduction to the endogenous cannabinoid system. *Biological Psychiatry*, *79*(7), 516–525. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028.An

Pan, J. P., Zhang, H. Q., Wei-Wang, Guo, Y. F., Na-Xiao, Cao, X. H. & Liu, L. J. (2011). Some subtypes of endocannabinoid/endovanilloid receptors mediate docosahexaenoic acid-induced enhanced spatial memory in rats. *Brain Research*, *1412*, 18–27. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.07.015

Patten, A. R., Sickmann, H. M., Dyer, R. A., Innis, S. M. & Christie, B. R. (2013). Omega-3 fatty acids can reverse the long-term deficits in hippocampal synaptic plasticity caused by prenatal ethanol exposure. *Neuroscience Letters*, *551*, 7–11. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.05.051

Peñasco, S., Rico-Barrio, I., Puente, N., Fontaine, C. J., Ramos, A., Reguero, L., Gerrikagoitia, I., Rodríguez de Fonseca, F., Barrondo, S., Aretxabala, X., García del Caño, G., Elezgarai, I., Nahirney, P., Christie, B. R. & Grandes, P. (2020). Intermittent Ethanol Exposure During Adolescence Impairs Cannabinoid Type 1 Receptor- Dependent Long-Term Depression and Recognition Memory in Adult Mice. *Neuropsychopharmacology*, *45*, 309–318. https://doi.org/10.1038/s41386-019-0530-5

Tajuddin, N., Moon, K. H., Marshall, S. A., Nixon, K., Neafsey, E. J., Kim, H. Y. & Collins, M. A. (2014). Neuroinflammation and neurodegeneration in adult rat brain from binge ethanol exposure: Abrogation by docosahexaenoic acid. *PLoS ONE*, *9*(7). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101223

Munduko Osasun Erakundea. (2018). Global status report on alcohol and health 2018. In *Global status report on alcohol and health 2018*. https://doi.org/10.1037/cou0000248

7. Eskerrak eta oharrak

Hauen babes eta finantzioazioari esker egin da lan hau: Eusko Jaurlaritza (IT1230-19); Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd), Instituto de Salud Carlos III (ISC-III RD21/0009/0006) eta Europar Batasunaren Europako Eskualde Garapenerako Funtsa (ERDF-EU; RD16/0017/0012); eta MINECO (Ministerio de Economía y Competitividad) (PGC2018-093990-AI00 MICIU/AEI/FEDER, UE); MS eta LL, Euskal Herriko Unibertsitateko doktoratu aurreko ikertzaileen kontratuak (PIF 19/164 eta PIF 18/315) eta AM-ren Eusko Jaurlaritzako doktoratu aurreko ikertzaile kontratua.

EAEko mendiko erreskate taldearen sasoi fisikoa

Aitor Pinedo-Jauregi, [1,*]; Jon Mikel Picabea-Arburu[1,]

1 Gorputz eta Kirol Hezkuntza Saila, Hezkuntza eta Kirol Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU. Vitoria-Gasteiz, Espainia; Bioaraba, Jarduera Fisikoa, Ariketa Fisiko eta Osasun Taldea. Vitoria-Gasteiz, Espainia.
aitor.pinedo@ehu.eus

Laburpena

Azken urteetan mendi erreskateek gorakada izan dute, erreskate taldeen lana handituz. Erreskate taldeen prestaketa fisikoa ezinbestekoa da larrialdiei aurre egiteko. Gaur egun, mendiko erreskatatzailei buruzko ikerketak urriak dira. Horregatik ikerketa honen helburua erreskatatzaileen egoera fisikoa aztertzea da. Burututako testen emaitzen ondorioz aipatzekoa da aztertutako erreskate taldeak egoera fisiko ona daukala. Baina, ikerketa gehiago behar dira mendiko erreskatatzaileen inguruko informazioa handitzeko.

Hitz gakoak: Jarduera fisikoa, mendia, fisiologia, antropometria, emergentziak.

Abstract

In recent years, mountain rescues have increased, leading to a higher demand of the rescue teams. The physical performance of rescuers is considered essential for dealing with the emergency. Nowadays, research on mountain rescuers is scarce. The purpose of this investigation is to study the physical condition of mountain rescuers. As a result of the tests, it should be noted that the rescuers that took part in this study are in a good physical condition. More research is needed to increase the information about mountain rescuers.

Keywords: Physical activity, mountain, physiology, anthropometric, emergency

1. Sarrera eta motibazioa

Espainian 2022an egindako azken kirol-ohituren inkestaren arabera, mendizaletasuna da jarduera fisikorik praktikatuena (División de Estadística y Estudios, 2022).

Ingurune naturalean kirola egitean gertatzen diren istripuek erreskatea eskatzen dute, istripua izan duen pertsona ezin bada bere kabuz edo kideren baten laguntzarekin mugitu. EAEko istripu-tasari buruz argitaratutako azken ikerketaren arabera, mendiko erreskateek gora egin dute azken hamarkadetan (Ballesteros Peña et al., 2019).

Erreskate jarduera motorrak ingurune natural batean (eremu ez-hiritarrean) gauzatzen dira, lurrazalean. Mendiko erreskateak honela definitu ditzakegu: gizakia edo animalia bat arrisku, kalte, molestia edo zapalkuntza batetik askatzeko, hirikoa ez den lurrazalean gertatzen den egoera motorrac (Pinedo-Jauregi, 2022).

Mendiko erreskate-taldeak arduratzen dira ingurune menditsuan gertatzen diren larrialdietara jotzeaz. Talde horiek muturreko egoerei egin behar diete aurre ingurune zailetan, eta egoera jakin batzuetan arriskua dakarte hauentzat (Johnson, 2004). Erreskateek, erreskatatzaileen aldetik, prestakuntza handia behar dute, esperientzia anitza, entrenamendu fisiko eta teknikoa zein aparteko antolakuntza (Johnson, 2004).

Mendiko erreskate-taldeen jarduna eliteko kirolarien taldeen jardunaren antzekoa izan daiteke, bi kolektibo hauetan errendimendu fisikoa oinarrizkoa denez norbanakoaren esparruan arrakasta izateko.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Erreskatatzailea erreskatea burutzen duen pertsona da. Erreskatearen eskakizun motorra egoera konplexu eta arriskutsua da erreskatatzailearentzat erreskatean murgilduta dagoenean (Pietsch et al., 2019; Tomazin et al., 2012).

Hori dela eta, larrialdiak dinamikoak eta fisikoki zorrotzak direnez, erreskatatzaileek ezagutza tekniko-taktiko berriak eskuratu behar dituzte etengabe (Lentz et al., 2019; Peters, 2003), eta ahalik eta egoera fisikorik onenean egon behar dira erreskatea gaitasun osoz egin ahal izateko.

Literaturan, larrialdietako langileak errendimendu fisikoaren ikuspegitik deskribatzen dituzten hainbat artikulu aurki ditzakegu: suhiltzaileak, poliziak, osasun-langileak eta militarrak (Gumieniak et al., 2018; Lockie et al., 2018; Marins et al., 2019; Rodríguez-Marroyo et al., 2012; Stevenson et al., 2017). Hala ere, mendiko erreskatatzailearen kolektiboak ez du analisi zientifikorik, eta mendiko erreskatatzaileak berariaz aztertzen dituen ikerketa bakarra aurkitu dugu (Callender et al., 2012).

Callender et al. (2012) mendiko gizonezko erreskatatzaileen egoera fisikoaren azterketa bat egiten du (adina = 45.5 ± 8.9 urte; altuera = 177 ± 6.6 zm; gorputz masa [GM] = 80.6 ± 9.9 kg; Gorputz Masa Indizea [GMI] = 25.7 kg/m^2; gantz portzentaia = 14.06 ± 3.3 %). Proba inkremental bat egin ondoren, oxigeno-kontsumo maximoaren (VO_2max) 52.6 ± 2.9 ml/kg/min eta bihotz maiztasun maximoa (BMmax) 189.6 ± 12.2 taupada minutuko (t/min) izan da. Atalasen aldetik, lehenengo aireztapen atalasea (VT1) VO_2max % 46.9 ± 7.4an eta bigarren aireztapen atalasea (VT2) VO_2max % 81.8 ± 7.2an kokatu egin dira.

Beste kolektibo batzuetan, hala nola baso-suhiltzailetan, erreskatatzaileen antzeko balioak aurkitzen ditugu. Rodríguez-Marroyo et al. (2012) gizonezko baso-suhiltzailei buruz burututako ikerketan honako balioak topatu zituzten: adina 25.2 urte; altuera 176 cm; GM 75.8 kg; eta GMI 24.36 kg/m^2. Errendimendu fisikoaren aldetik, 56.2 ml/kg/min VO_2max-a eta 190 t/min BMmax topatu zituzten. Atalasea oxigeno kontsumo maximoaren arabera VT1 % 48.2an eta VT2 %7 9.8an kokatu dira.

Gizon suhiltzaileekin burututako beste ikerketa batean aipatu dute gorputz masa 83 ± 15 kg, altuera 179 ± 7 cm, GMI 26.4 kg/m^2 eta gantz portzentaia % 16.5 izan dela (Stevenson et al., 2017). Polizien egoera fisikoa aztertu zuen errebisio sistematiko batek, polizien batez besteko kontsumo maximoa 48.8 ml/kg/min dela, gatz portzentaiaren aldetik % 12 eta % 28.2 bitartekoa zela topatu zuten (Marins et al., 2019).

Gauzak horrela, ikerketa honen helburua mendiko erreskatista profesionalen deskribapen fisikoa izango da. Konkretuki, EAEko mendiko erreskate taldearen karakterizazioa burutu da.

3. Ikerketaren muina

Metodoa

Ikerketa bi zatitan burutu da, bi atalen helburua mendiko erreskatista profesionalen deskribapen fisikoa aztertzea izan zen.. Lehenengo zatian, 17 (16 gizon eta emakume 1) erreskatatzaile profesional Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) Hezkuntza eta Kirol Fakultateko errendimendu laborategira joan ziren. Bertan, aldez aurretik gorputz konposizioari buruzko neurketak burutu ziren. Ondoren, ibiltzeko makinan test maximal bat burutu zuten. Testa, 8 km/h hasita 3 minuturo abiadura handitzen joan zen (+ 1 km/h,) testa bukatutzat eman zen erreskatatzaileak abiadura ezin zuenean mantendu. Proban zehar, gas analizatzailearen bitartez oxigeno kontsumo maximoa (VO_2max) eta bihotz maiztasuna (BM) neurtu ziren. Ondoren, lehenengo eta bigarren aireztapen atalaseak zein VO_2 max identifikatu ziren.

Bigarren zatian 13 (12 gizon eta emakume 1) erreskatatzaile profesionalek parte hartu zuten. Atal honetako testak erreskatista profesionalen lan tokian burutu ziren. Aldez aurretik, altura eta gorputz masaren baloreak neurtu ziren. Ondoren proba fisiko ezberdinak burutu ziren. Besaurreko indarra neurtzeko *HandGrip* testa burutu zen. Goiko gorputz adarreko indarra neurtuzko, *Push Up* (120 s) testa burutu zen. Beheko gorputz adarreko indarra neurtzeko bi salto mota burutu ziren, *Counter Movement Jump* (CMJ) eta *Squat Jump* (SJ) saltoak. Azkenik 200mko testa burutu zen atletismoko pistan. Burututako ikerketak Gizakiekin lotutako UPV/EHUko Ikerketetarako Etika Batzordearen onarpena izan du.

4. Emaitzak eta Eztabaida

Lortutako emaitzak jarraian agertzen diren tauletan azaltzen dira. Lehenengo zatiari buruzko emaitzak 1. Taulan topatu ditzakegu. Emaitzak aztertuz, ikusi dezakegu Callender et al. (2012) ikerketaren antzeko baloreak dituztela gure erreskate taldeak bai gorputz konposizioaren aldetik zein errendimendu fisikoaren aldetik. Suhiltzaileekin konparaketa egiten badugu (Rodríguez-Marroyo et al., 2012) adina aldetik ikusi dezakegu erreskate taldekoak suhiltzailekoak baino zaharragoak direla. Aldiz, errendimenduaren aldetik nahiko antzekoak dira.

Errendimendu altuko kirolariekin konparaketa egiten badugu, ikusi dezakegu oso urrun geratzen direla mendiko erreskatatzaileak oxigeno kontsumo maximoa kontuan hartzen badugu. Goi mailako korrikalari batek 80 ml/kg/mi VO_2max izan dezake (Haugen et al., 2018), aldiz, gure ikerketan 53 ml/kg/min topatu dugu.

Carceller et al. (2019) mendizaletasunean esperientzia dutenekin ikerketa egin zuten. Ikerketa horretan VO_2max 66.4 ±7.7 ml/kg/min, VT1-VO_2 max % 67.2 eta VT2-VO_2max %88 zela ikusi zuten. Beraz, aipatutako ikerketarekin konparatuz, gure ikerketako partehartzaileek maila fisiko baxuagoa daukate, bihotz arnaseko parametroak errendimenduko markatzaile bezala hartzen baditugu.

Aldiz, populazio orokorraren baloreak kontuan hartuz (American College of Sports Medicine, 2017), gure erreskatatzaileak egoera fisiko onean daude. Gorputz masaren indizearen arabera egoera normala bezala sailkatu ditzakegu. Gantz portzentaia kontuan hartzen badugu, taula normatiboen arabera, (American College of Sports Medicine, 2017) %80- 90 pertzentilean kokatu ditzakegu gure parte-hartzaileak. Beraz, gantz portzentai egokia daukate.

1. Taula. Lehenengo zatian burututako proben emaitzak.

	BB	DS	MIN	MAX
Adina (Urt)	43.88	5.86	33.00	55.00
Altuera (cm)	175.74	5.44	166.50	185.90
Masa (kg)	74.33	8.18	59.00	90.40
GMI (kg/m^2)	24.04	1.63	21.20	27.30
GRA (%)	12.17	3.45	6.80	19.50
BMmax (tmin)	181.60	10.80	168.00	208.30
VO_2max (ml/kg/min)	53.54	5.31	44.20	63.80
VT1-BM (t/min)	137.19	12.16	116.80	163.47
VT1-BM (%BMmax)	75.63	6.34	65.70	88.30
VT1-VO_2 (ml/kg/min)	35.14	3.51	29.96	43.36
VT1-VO_2 (%VO_2max)	65.91	6.26	53.15	81.97
VT2-BM (t/min)	163.53	11.04	145.03	181.95
VT2-BM (%BMmax)	90.09	4.22	83.16	98.31
VT2-VO_2 (ml/kg/min)	46.08	5.93	40.10	58.90
VT2-VO_2 (%VO_2max)	86.05	6.35	73.32	94.64

Oharra: BB: Batez Bestekoa; DS: Desbideraketa estandarra; MIN: Balore minimoa; MAX: Balore maximoa; GMI: Gorputz masa indizea; GRA: Gantz portzentaia; BMmax: Bihotz maiztasun maximoa; VO_2max: Oxigeno kontsumo maximoa; VT1: Lehenengo aireztapen atalasea; VT2: Bigarren aireztapen atalasea.

Bigarren zatiari buruzko emaitzak 2. taulan topatu ditzakegu. Populazio orokorra kontuan (American College of Sports Medicine, 2017) hartuz *Hand Grip* eta *Push Up* testen arabera, primerako heltze indarra daukate zein goiko gorputz adarreko erresistentzia indarra. Antropometriaren aldetik lehenengo zatiarekin aldenduz antzeko balioak dira, kontuan hartu behar da parte hartzaile batzuk berberak izan direla.

Antzeko populazioak hartzen badira kontuan, (sartu berri diren poliziak, esate baterako, Marins et al. (2019) ikertzaileek errebisio sistematiko bat burutu zuten populazio horren egoera fisikoa identifikatzeko. Ikerketa horren arabera *Hand Grip* testean batezbesteko 52.6 kg eta *Push Up* (60s) 37.3 errepikapen topatu zuten. Gure ikerketa balio hauekin bat dator, nahiz eta *Push Up* testa protokolo ezberdina erabili genuen.

Lockie et al. (2018) gure ikerketaren *Push Up* protokolo berbera burutu zuten polizia talde batean, ikerketa horretan batez beste 55.6 ± 12.20 errepikapen zenbatu zuten gure ikerketako balioen oso antzekoak (52.15 ± 12.47 errepikapen). 200 m-ko testa kontuan hartuz 32.21 ± 17.59 s neurtu zuten, gure ikerketako balioen antzekoak izanik.

CMJ eta SJ saltoen aldetik, topatutako balioak distantzia luzeko korrikalarien antzekoak izan dira hurrenez hurren (Kozinc et al., 2021).

2. Taula. Bigarren zatian burututako proben emaitzak.

	N	BB	DS	MIN	MAX
Adina (Urt)	13.00	43.25	5.92	33.86	50.46
Altuera (cm)	13.00	177.91	5.36	167.70	185.60
Masa (kg)	13.00	77.18	9.50	58.90	88.70
GMI (kg/m^2)	13.00	24.29	1.86	20.94	26.81
Hand Grip Eskuina (kg)	13.00	55.82	10.94	37.47	74.53
Hand Grip Ezkerra (kg)	13.00	52.59	9.75	33.57	64.57
CMJ (cm)	12.00	30.02	3.86	23.28	36.70
SJ (cm)	12.00	26.74	3.53	21.65	34.12
Push Up (zenb.)	13.00	52.15	12.47	40.00	80.00
200m (s)	5.00	32.76	3.86	27.53	38.10

Oharra: N: Parte hartzaile kopurua; BB: Batez Bestekoa; DS: Desbideraketa estandarra; MIN: Balore minimoa; MAX: Balore maximoa; GMI: Gorputz masa indizea; GRA: Gantz portzentaia; CMJ: Counter movement jump; SJ; Squat Jump.

5. Ondorioak

Aztertutako mendi erreskate taldeak, datuen arabera egoera fisiko ona dut. Populazio orokorrarekin konparatzerakoan ikusi da erreskatatzaileek egoera fisiko onagoa daukatela. Aldiz, errendimendu altuko kirolariekin alderatuz, maila baxuagoa daukate. Hala ere, antzeko giza talde batekin konparatzerakoan, ikusi daiteke sasoi fisikoko maila berdintsua daukatela.

Egileen ustez, gomendagarria izango litzateke jarduera fisikoa hobetzeko programa bereziak antolatzea eguneroko erreskateen berezitasunak kontuan hartuta.

6. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Beste kolektibo batzuetan, adibidez militarra, ikerketak burutu dira testak eta lan egunean burutzen diren eginkizunen arteko erlazioa aztertzeko (Hauschild et al., 2017). Aldiz, mendiko erreskatatzaileen alorrean ez da horrelakorik burutu. Ikerketa hau abiapuntua izan daiteke esparru honetan ikerketak burutzen hasteko.

Kontuan izan behar da, emergentzia talde ugarien arrakasta jarduera motorraren eginkizunaren araberakoa izan daitekeela. Beraz, ezinbestekoa izango litzateke kolektibo konkretu honen egoera eta betebeharren eginkizunen arteko erlazio aztertzea.

7. Erreferentziak

American College of Sports Medicine. (2017). *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Wolters Kluwer Health.

Ballesteros Peña, S., Arriba Herrero, M., Javares Artigues, P. S., Alonso Pinillos, A., & Ituarte Azpiazu, I. (2019). Changes in mountain accidents and incidents in the Basque Country: 1996-2016. *Emergencias*, *31*(2), 141-142. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30963745

Callender, N., Ellerton, J., & MacDonald, J. H. (2012). Physiological demands of mountain rescue work. *Emergency Medicine Journal*, *29*(9), 753-757. https://doi.org/10.1136/emermed-2011-200485

Carceller, A., Javierre, C., Corominas, J., & Viscor, G. (2019). Differences in Cardiorespiratory Responses in Winter Mountaineering According to the Pathway Snow Conditions. *High Alt Med Biol*, *20*(1), 89-93. https://doi.org/10.1089/ham.2018.0096

División de Estadística y Estudios. (2022). *Encuesta hábitos deportivos 2022.*

Gumieniak, R. J., Shaw, J., Gledhill, N., & Jamnik, V. K. (2018). Physical employment standard for Canadian wildland fire fighters; identifying and characterising critical initial attack response tasks. *Ergonomics*, *61*(10), 1299-1310. https://doi.org/10.1080/00140139.2018.1464211

Haugen, T., Paulsen, G., Seiler, S., & Sandbakk, Ø. (2018). New Records in Human Power. *Int J Sports Physiol Perform*, *13*(6), 678-686. https://doi.org/10.1123/ijspp.2017-0441

Hauschild, V. D., DeGroot, D. W., Hall, S. M., Grier, T. L., Deaver, K. D., Hauret, K. G., & Jones, B. H. (2017). Fitness tests and occupational tasks of military interest: a systematic review of correlations. *Occup Environ Med*, *74*(2), 144-153. https://doi.org/10.1136/oemed-2016-103684

Johnson, L. (2004). An introduction to mountain search and rescue. *Emergency Medicine Clinics of North America*, *22*(2), 511-24, x. https://doi.org/10.1016/j.emc.2004.01.010

Kozinc, Ž., Žitnik, J., Smajla, D., & Šarabon, N. (2021). The difference between squat jump and countermovement jump in 770 male and female participants from different sports. *Eur J Sport Sci*, 1-9. https://doi.org/10.1080/17461391.2021.1936654

Lentz, L., Randall, J. R., Gross, D. P., Senthilselvan, A., & Voaklander, D. (2019). The relationship between physical fitness and occupational injury in emergency responders: A systematic review. *American Journal of Industrial Medicine*, *62*(1), 3-13. https://doi.org/10.1002/ajim.22929

Lockie, R. G., Dawes, J. J., Balfany, K., Gonzales, C. E., Beitzel, M. M., Dulla, J. M., & Orr, R. M. (2018). Physical Fitness Characteristics That Relate to Work Sample Test Battery Performance in Law Enforcement Recruits. *Int J Environ Res Public Health*, *15*(11), 2477. https://doi.org/10.3390/ijerph15112477

Marins, E. F., David, G. B., & Del Vecchio, F. B. (2019). Characterization of the Physical Fitness of Police Officers: A Systematic Review. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *33*(10), 2860-2874. https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003177

Peters, P. (2003). Personal and professional profile of mountain medicine physicians. *Wilderness & Environmental Medicine*, *14*(3), 155-160. https://doi.org/10.1580/1080-6032(2003)14[155:PAPPOM]2.0.CO;2

Pietsch, U., Strapazzon, G., Ambühl, D., Lischke, V., Rauch, S., & Knapp, J. (2019). Challenges of helicopter mountain rescue missions by human external cargo: need for physi-

cians onsite and comprehensive training. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, *27*(1), 17. https://doi.org/10.1186/s13049-019-0598-2

Pinedo-Jauregi, A. (2022). *Análisis de parámetros biomecánicos y fisiológicos de rescatadores profesionales de montaña durante la marcha con mochila*. [Doktorego tesia] Euskal Herriko Unibertsitatea, Gorputz eta Kirol Hezkuntzako Saila. http://hdl.handle.net/10810/59243.

Rodríguez-Marroyo, J. A., López-Satue, J., Pernía, R., Carballo, B., García-López, J., Foster, C., & Villa, J. G. (2012). Physiological work demands of Spanish wildland firefighters during wildfire suppression. *International Archives of Occupational and Environmental Health, 85*(2), 221-228. https://doi.org/10.1007/s00420-011-0661-4

Stevenson, R. D., Siddall, A. G., Turner, P. F., & Bilzon, J. L. (2017). Physical Employment Standards for UK Firefighters: Minimum Muscular Strength and Endurance Requirements. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, *59*(1), 74-79. https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000000926

Tomazin, I., Vegnuti, M., Ellerton, J., Reisten, O., Sumann, G., & Kersnik, J. (2012). Factors impacting on the activation and approach times of helicopter emergency medical services in four Alpine countries. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, *20*, 56. https://doi.org/10.1186/1757-7241-20-56

8. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa honen egileek ezkerrak eman nahi diote alde batetik Eusko Jaurlaritzako Segurtasun Sailari, Ertzaintzako Zaintza eta Erreskate Unitatearekin (ZEU) ikerketa burutzen uzteagatik. Bestetik, bereziki eskerrak eman mendiko alorreko ZEU taldeari ikerketa honetan izan duten inplikazioagatik. Bukatzeko, aipatu beharra dago Aitor Pinedo Jauregi tesiaren ondorioz ateratako datuak direla, eta tesi horrek Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Saileko doktore aurreko programaren laguntza jaso duela.

Obesitatearen estigma osasun profesionalengan: literaturaren berrikuspena

Tamara E. Gomez (1), Oihana Aguirreurreta (1) eta Eva Pereda-Pereda (2,3)

(1) Psikologia Klinikoa eta Osasunaren Psikologia eta Ikerketa Metodologia Saila, Psikologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), (2) Vitoria-Gasteizko Erizaintzako Unibertsitate Eskola, Osakidetza (3) Biodonostia, Osasun Mentala eta Arreta Psikiatrikoaren Taldea

tamaragom3zzz@gmail.com

Laburpena

Literaturaren berrikuspen honek osasun-profesionalen obesitatearen inguruko sinesmen eta jokabide estigmatizatzaileak aztertzea du helburu, jokabide horiek detektatzeko, kontzientziatzeko eta murrizteko. Bilaketa sistematikoan 31 artikulu aukeratu ziren. Emaitzek jakinarazi zutenez osasun-arloko profesionalek obesitateari buruzko ikuspegi estigmatizatua eta obesitatea duten pertsonenganako jarrera negatibo inplizitu eta esplizituak dituzte, hauen osasun fisiko eta psikologikoa kaltetuz. Etorkizuneko ikerketek osasun-profesionalen obesitatearen estigma desagerrarazteko esku-hartzeak jorratu beharko lituzkete eta psikologiako profesionalek obesitatea duten pertsonen osasun mentala sustatzeko terapia psikologiko eraginkorretan hezi beharko lirateke.

Hitz gakoak: osasun-profesionalak, estigmatizazioa, obesitatea.

Abstract

This literature review aims to explore stigmatising beliefs and behaviours around obesity among healthcare professionals to detect, raise awareness and reduce these behaviours. In the systematic search, 31 articles were selected. The results reported that health professionals have a stigmatising view of obesity and implicit and explicit negative attitudes towards people with obesity, affecting their physical and psychological health. Future research should address interventions to eradicate obesity stigma among healthcare professionals. Psychology professionals should be trained in effective psychological therapies to promote the mental health of people living with obesity.

Keywords: health care professional, stigmatization, obesity.

1. Sarrera eta motibazioa

Pisuari lotutako estigmak pisuaren alborapena dakar, zeinak obesitatea eta gainpisua duten pertsonei gehiegizko pisua izateagatik bideratutako jarrera negatiboei (kognitiboa, afektiboa eta jokabidezkoa) eta diskriminazio-ekintzei erreferentzia egiten dien (Lewis eta Van Puymbroeck, 2017). Diskriminazioa beren pisua autodiziplina eta erantzukizun pertsonal faltatik datorrela zehazten duen frogatu gabeko ustetik dator (Rubino et al., 2020). Obesitatearen estigma osasun-profesionalen artean ere zabaltzen den ohiko fenomenoa da. Estigma honen efektu zuzenen artean obesitatearen kausen inguruko sinesmen negatiboetan eta ezarritako tratamenduan duen eragina eta pazienteen pisuan zentratutako arreta daude (Alberga, Edache, et al., 2019). Horrela, profesional-paziente arteko interakzioa oztopatzen da, esate baterako enpatian (Seymour et al., 2018), interakzioaren kalitatean (Phelan et al., 2015), eta tratamenduaren eraginkortasunaren inguruko konfiantza faltan (Warr et al., 2021). Diskriminazio honek pertsonaren bizi-kalitatean, osasun fisikoan eta mentalean ondorio larriak sortzen ditu (Lewis eta Van Puymbroeck, 2017), obesitatearen diskriminazioa eta estigmatizazioa hautemateak eta barneratzeak antsietate- eta depresio-sintomak sortzen dituela kontuan izanik (Lillis et al., 2020). Gainera, obesitateari lotutako estigma barneratzeak gorputz-irudiarekin asebetetze-eza, autoestimu baxua, lotsa, beldurra, gutxiagotasun sentimendua, frustrazioa eta isolamendu sozialaren jokabideak sortu ditzake (Pearl eta Puhl, 2016) eta obesitatea eta gainpisua duten pertsonen elikadura alterazioen % 45a azal dezake (Durso et al., 2012).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Oraindik ere desinformazio handia dago osasun-langileen artean obesitatearen estigmak dituen ondorio negatibo sozial, fisiko eta psikologikoen inguruan (Sánchez-Carracedo, 2022). Lan honen

bidez, Osasun Zientzietako profesionalek obesitatearekiko eta obesitatea duten pertsonekiko duten estigmatizazioa aztertu nahi da hauen emozio, jokabide eta sinesmen negatiboak laburbilduz eta estigmak osasun zerbitzuetako erabiltzaileen osasun arretan profesional-paziente harremanean eta ezarritako tratamenduan nola eragiten duen ikertu nahi da.

3. Metodologia

Bilaketa sistematikoa 2012 eta 2021 bitartean *PubMed*, *Web Of Science*, *PsycINFO* eta *Scopus* datu-baseetan argitaratutako azterlanen gauzatu zen. Ondorengo hitz-gakoak erabili ziren: *high BMI*, *overweight*, *obesity*, *weight prejudice*, *weight stigma*, *stigmatization*, *stereotyping*, *bias*, *psychologist*, *health personnel*, *psychotherapists* eta *delivery of health care*. Bilaketan 1161 emaitza lortu ziren guztira. Lortutako emaitzen hautaketa egiteko hurrengo kanpo-irizpideak erabili ziren: (1) obesitateaz gain beste baldintza fisiko edo psikiko batzuk lantzen zituzten ikerketak, (2) biztanleriaren talde zehatzak (haurdunak, kirurgia bariatrikoa) aztertzen zituztenak, (3) adingabeekin egindako azterlanak, (4) literatura grisa, diseinu kualitatiboko azterlanak, berrikuspen sistematikoak eta meta-analisiak baztertu ziren. Horietan oinarrituz, 31 artikulu egokitzat jo ziren berrikuspenerako.

4. Emaitzak

4.1. Obesitatearen estigmatizazioa osasun profesionalengan

Medikuntzaren esparruan, obesitatearen estigmatizazio modu esanguratsuan ikusi zen maila ezberdinetan: altua (Sabin et al., 2012), moderatu-altuan (Miller et al., 2013; Phelan et al., 2021; Schwenke et al., 2020) eta moderatuan (Bøker Lund et al., 2018; Pantenburg et al., 2012; Phelan et al., 2014; Welsh et al., 2021) eta baxuan (Alberga, Nutter, et al., 2019). Zenbait kasutan parte-hartzaileek adjektibo negatiboak modu esanguratsuagoan lotu zituzten obesitatea zuten pazienteekin (OP), adibidez, “alferra izatea”, “motibazio eza” edo “autokontrol eza” (Alberga, Nutter, et al., 2019; Aweidah et al., 2016; Bøker Lund et al., 2018; Pantenburg et al., 2012; Welsh et al., 2021). Era berean, hainbat subjektuek pisu normala zuten pazienteak (NP) OP-ak baino nahiago izatearen joera behatu zen (Miller et al., 2013; Sabin et al., 2012). Obesitatearen etiologiaren inguruko erantzun gehienek profesionalek obesitatearen etiologia jokabideari eta nortasunari egotzi zioten (kaloria asko jateari, ariketa fisiko ezari edo zabarkeria pertsonalari (Alberga, Nutter, et al., 2019; Pantenburg et al., 2012; Schwenke et al., 2020).

Erizaintzako profesional gehienek OP-ekiko pisu alborapena eta jarrera negatiboak adierazi zituzten (Hauff et al., 2020; Hemati eta Zokaei, 2016; Robstad et al., 2019; Tanneberger eta Ciupitu-Plath, 2018; Usta et al., 2021; Yılmaz eta Yabancı Ayhan, 2019). Jarrera negatiboak OP-ei egotzitako adjektibo negatiboen bidez islatu ziren, hala nola “alferra”, “borondate, maitasun eta arreta eza”, “gaiztoa” edo “erakargarritasun gutxikoa” (Robstad et al., 2019; Yılmaz eta Yabancı Ayhan, 2019). Aitzitik, Wang et al.-ek (2016) erizainek OP-ekiko jarrera neutroak eta apur bat positiboak zituztela adierazi zuten. Obesitatearen etiologiaren ikuspegiari dagokionez, gehien aipatu ziren kausak OP-en barne-lokusarekin lotutakoak izan ziren, adibidez, elikadura ezegokia eta jarduera fisiko ezarekin lotutakoak (Hemati eta Zokaei, 2016; Robstad et al., 2019; Tanneberger eta Ciupitu-Plath, 2018). Hala ere, kausa biologikoak (Hemati eta Zokaei, 2016; Yılmaz eta Yabancı Ayhan, 2019) edo kanpo kausak (Wang et al., 2016) errazago azaldu zituzten azterlanak aurkitu ziren erizaintzako eremuan.

Nutrizio eta dietetika profesional gehienek, baita ikasleek ere, pisuaren alborapen arin-ertaina erakutsi zuten (Cassiano et al., 2021; Diversi et al., 2016). Hauek obesitatearen etiologia jokabide-ezaugarriei (kaloria gehiegi hartzea, jarduera fisikorik ez izatea), aldaketa emozional handiei, autoestimuari edo janariarekiko adikzio gehiago izateari egotzi zioten (Cassiano et al., 2021). Bestalde, lotura positiboa ikusi zuten obesitatearen arrazoien uste estigmatizatuen eta OP-ekiko jarrera negatiboen artean.

Fisioterapiaren arloan egindako bi azterlanek aurkitu zuten subjektuek maila ertaineko pisuaren alborapena eta jarrera negatiboak aurkezten zituztela OP-ekiko (Elboim-Gabyzon et al., 2020; Setchell et al., 2014). Bi azterlanetan OP-ei gehien lotutako adjektiboa "borondate eza" izan zen. Setchel et al.-ek (2014) lortutako emaitza obesitatea norbanakoaren kontrolpean dagoelaren sinesmenarekin lotuta zegoela izan zen, aitzitik, Elboim-Gabizon et al.-ek (2020) profesionalek joera hori ez zutela adierazi zuten.

Osasun arlo ezberdinetako profesionalekin eta ikasleekin egindako azterlanen emaitzek OP-ekiko joera negatiboak zeudela adierazi zuten medikuntzan (Blanton et al., 2016; Bucher Della Torre et al., 2018; Khandalavala et al., 2014; Sobczak eta Leoniuk, 2021; Soto et al., 2014; Swift et al., 2013), psikologian (Escandón-Nagel eta Larenas-Said, 2020; Sikorski et al., 2013; Soto et al., 2014; Waller et al., 2012), erizaintzan (Bucher Della Torre et al., 2018; Khandalavala et al., 2014; Sikorski et al., 2013; Sobczak eta Leoniuk, 2021; Swift et al., 2013; Waller et al., 2012), nutrizioan eta dietetikan (Blanton et al., 2016; Khandalavala et al., 2014; Swift et al., 2013), terapia okupazionalean (Blanton et al., 2016; Escandón-Nagel eta Larenas-Said, 2020), farmazian (Khandalavala et al., 2014), odontologian (Blanton et al., 2016) eta fisioterapian (Blanton et al., 2016; Sobczak eta Leoniuk, 2021). Jarrera hauek profesionalek izandako sentsazioetan islatu ziren, adibidez, pena (Bucher Della Torre et al., 2018), frustrazioa (Puhl et al., 2014) eta amorrua sentitzean (Sikorski et al., 2013) edo OP-ei arbuioz, ezintasunez eta atsekabez begiratzean (Sobczak eta Leoniuk, 2021). Hala, zenbat subjektuk osasun-arloan OP-ekiko diskriminazioa ohikoa zela (Puhl et al., 2014; Sobczak eta Leoniuk, 2021) eta OP-ak mespretxuzko umorezko ohiko ituak zirela adierazi zuten (Puhl et al., 2014). Parte-hartzaileek OP-ak deskribatzeko gehien aipatu zituzten adjektiboak negatiboak izan ziren, hala nola "borondate eza" (Blanton et al., 2016; Khandalavala et al., 2014), "segurtasun eza", "autoestimu baxua", "barkaberak" (Blanton et al., 2016), "arduragabeak", "alferrak", "isolatuak", "deprimituak" (Bucher Della Torre et al., 2018) edo "kontrol gutxikoak" (Soto et al., 2014).

Obesitatearen kausalitate bezala seinalatutako kausak banakoaren kontrolari erreferentzia egiten zioten kausekin erlazionaturik egon ziren (Blanton et al., 2016; Bucher Della Torre et al., 2018; Escandón-Nagel eta Larenas-Said, 2020; Puhl et al., 2014; Sikorski et al., 2013). Aitzitik, aipatu beharra dago psikologiako ikasleek obesitatearen alderdi psikologikoekin gehiago lotu zutela, zehazki, antsietatearekin, autoestimu-arazoekin eta inpultsibitatearekin (Escandón-Nagel eta Larenas-Said, 2020). Era berean, azterlan batzuek adierazi zuten erizaintzako profesional eta ikasleek (Bucher Della Torre et al., 2018; Sikorski et al., 2013; Swift et al., 2013) pisu-alborapen eta jarrera negatibo gutxiago izan zituztela gainerako eremuekin alderatuta; aldiz, Blanton et al.-en (2016) ikerketak zioen ezaugarri hau dietetikaren esparruari zegokiola. Horrez gain, psikologiako ikasleek medikuntzako ikasleek baino pisu-alborapen txikiago adierazi zuten eta erizaintzako ikasleen pisuaren alborapen maila bera (Waller et al., 2012).

4.2. Obesitatearen estigmaren ondorioak

Jarrera estigmatizatzaileen eraginarekin jarraituz, medikuntzan Welsh et al.-ek (2021) OP-en eta NP-en tratamenduen artean ezberdintasunik aurkitzen ez zela zioten(Welsh et al., 2021)(Welsh et al., 2021)(Welsh et al., 2021)(Welsh et al., 2021). Aitzitik, beste ikerketa batzuetan ezberdintasunak aurkitu ziren, zeinak OP-ei eta NP-ei ezarritako gomendio ezberdinetan islatzen ziren: OP-ei sarriago gomendatzen zitzaien osasun-analisiak eta jarraipenak egitea edo profesional gehienek pisu-galeraren gaia jorratu zuten nahiz eta kontsultaren arrazoiak pisu galerarekin zerikusirik ez izan (Phelan et al., 2021). Era berean, profesionalek interes, adeitasun, errespetu, interakzio eta pazienterengan zentraturiko jarrera gutxiago erakusteko joera zuten (Phelan et al., 2021), baita OP-ek tratamendua jarraitzeko gaitasunaren sinemenean fede gutxiago ere (Bøker Lund et al., 2018).

Erizaintzako profesionalen estigmaren ondorioen inguruko emaitzek kongruentzia eza erakutsi zuten. Alde batetik, Tanneberger-ek eta Ciupitu-Plath-ek (2018) profesional gehienek OP-ek tratu ezberdina jasotzen zutela ikusi zuten NP-ekin alderatuta, eta erdiek onartu zuten OP-ei tratu ezberdina eman izana. Aldiz, Hauff et al.-ek (2020) profesionalek OP-en tratamendua eta

helburuak modu zuzen, egoki eta neutralean inplikatu, ebaluatu eta eztabaidatu zituztela adierazi zuten.

Nutrizioa eta dietetika ikerlanetan, Diversi et al.-ek (2016) OP-en eta NP-en artean ebaluazioa eta tratamendua ezberdinak zirela adierazi zuten. Izan ere, profesionalek pisuaren galeraren eta kontrolaren gaiari heltzen zieten modu errepikakorrean nahiz eta kontrolaren arrazoia beste bat izan.

Fisioterapeuten estigmak OP-ei eskainitako denborari eta ezarritako tratamenduari eragin zion (Setchell et al., 2014). Ikerketak fisioterapeutek OP-ak tratatzeko orduan gomendio ez hain zehatzak erabiltzen zituztela adierazi zuen.

Zenbait profesionalen jarrera estigmatizatua ez zen islatu OP-ei emandako tratu bereizgarrietan. Puhl et al.-en (2014) ikerketaren profesionalek nolabaiteko ezkortasuna erakutsi zuten OP-en tratamenduarekiko, bereziki, tratamendua betetzeari eta pisua mantentzeari buruzko usteetan. Halaber, Bucher Della Torre et al.-en (2018) parte-hartzaileek OP-ekin lan-karga handiagoa zutela adierazi zuten PN-en aldean.

4.3. Beste aldagai batzuk

Profesionalen genero-aldagaia aztertu zuten ikerketa gehienetan genero maskulinoa izan zen OP-ekiko joera negatibo gehiena izan zuena (Alberga, Nutter, et al., 2019; Cassiano et al., 2021; Escandón-Nagel eta Larenas-Said, 2020; Miller et al., 2013; Pantenburg et al., 2012; Phelan et al., 2021; Robstad et al., 2019; Sabin et al., 2012). Beste hainbatetan, emakumeen artean aurkitu ziren obesitatearekiko jarrera negatibo gehiago (Elboim-Gabyzon et al., 2020; Schwenke et al., 2020; Setchell et al., 2014; Sobczak eta Leoniuk, 2021; Soto et al., 2014; Usta et al., 2021). Pazienteen generoari erreparatuz, emakumezkoek jarrera negatibo gehiago pairatzen zituzten (Sikorski et al., 2013; Waller et al., 2012), osasun jarraipena sarriago gomendatuz (Bøker Lund et al., 2018).

Profesionalen gorputz-masaren indizea (GMI) handiagoa estigma-maila altuagoekin lotu zen arren (Alberga, Nutter, et al., 2019; Cassiano et al., 2021; Diversi et al., 2016; Hemati eta Zokaei, 2016; Sobczak eta Leoniuk, 2021; Soto et al., 2014; Usta et al., 2021; Wang et al., 2016; Welsh et al., 2021; Yılmaz eta Yabancı Ayhan, 2019), beste kasu batzuetan GMI baxuagoak obesitatearen aurkako jarrera negatiboekin gehiago lotu zen (Phelan et al., 2014; Sabin et al., 2012; Yildiz eta Yalcinoz Baysal, 2019). Era berean, elikadura-nahasmenduen sintomak edo dieta egin izanaren aurrekariak (kalorien erregistroa adibidez) zituzten subjektuek OP-ekiko aurkako joera eta arbuio handiagoa izan zuten (Escandón-Nagel eta Larenas-Said, 2020; Puhl et al., 2014; Wang et al., 2016).

Horretaz gain, profesionalek esperientzia eta kontaktu gehiago zutenean OP-ekin orduan eta estigma gutxiago adierazten zuten (Diversi et al., 2016; Soto et al., 2014; Wang et al., 2016). Adinari dagokionez, emaitza inkongruenteak daude, izan ere, kasu batzuetan adin gehiago zuten profesionalek estigma gutxiago adierazten (Diversi et al., 2016; Miller et al., 2013; Phelan et al., 2014; Schwenke et al., 2020; Wang et al., 2016) eta beste batzuetan estigma gehiago (Cassiano et al., 2021; Khandalavala et al., 2014; Sikorski et al., 2013; Sobczak eta Leoniuk, 2021; Swift et al., 2013).

5. Ondorioak

Literaturaren berriskupen honen helburua obesitatearen inguruan osasun arloko profesionalen balizko ikuspuntu estigmatizatua ikuskatzea eta honek obesitatea duten pertsonen tratamenduan edo erlazio klinikoan nola eragin zezakeen aztertzea zen. Lan honen emaitzek bat egiten dute Espainiako profesionalen artean obesitatearekiko jarrera negatibo eta estigmatizatzaileekin (Sánchez-Carracedo et al., 2021).

Profesionalek obesitatearen etiologiaren inguruan duten ikuspegia kontrol indibidualarekin lotzearen sinesmenean oinarritzen da: obesitatea jokabide zein nortasunarekin lotutako kausen ondorioz agertzen den fenomenoa delaren konbikzioa esplizitatu zuten, kausa biologikoei eta

sozialei garrantzia kenduz. Hala ere, ebidentzia zientifikoak ikuspegi hau errefusatzen du gaixotasunaren faktore-anitzeko konplexutasuna ez duelako kontuan hartzen (Rubino et al., 2020; Sánchez-Carracedo, 2022). Honekin batera, erizainek OP-ekiko jarrera negatibo gutxiago adierazten zituztela eta psikologiako ikasleriak obesitatea kausa psikologikoei egozten zioten. Emaitza hauek bat datoz obesitatearen etiologia psikologikoaren inguruko ezagutza edukitzea pisuaren joera txikiagoa izatearekin lotzen duen literaturarekin (Puhl et al., 2015).

Ikuspegi estigmatizatu hau nahiz obesitatea duten pertsonak artatzerakoan profesionalek izandako arbuiozko emozioak ohikoak izan ohi dira (Alberga, Edache, et al., 2019) eta obesitatearen gaitzaren inguruko desinformazio mailaren ondorio izan daiteke. Izan ere, literaturak dio osasun arloko profesionalek desinformazio maila altua adierazten zituztela obesitatearen kausa, tratamendu eta teknikei dagokienez (Rubino et al., 2020).

Jarrera estigmatizatzaileen ondorioen artean osasun profesionalek pisu galeraren gaia jorratu izana aurkitu zen, nahiz eta pazientearen kontsultaren arrazoiak pisuarekin zerikusi txikia izan arren (Alberga, Edache, et al., 2019). Ikerketa batean emakumeek baieztatu zuten psikoterapeuta pazientearen kezka iturri gisa pisu galeran soilik zentratu zela, pazientearengan interes gutxiago adierazteaz gain (Akoury et al., 2019). Sinesmen diskriminatzaileen beste ondorio bat pazientearengan zentratutako komunikazioa eta jarrera mantentzeko zailtasunekin lotu zen. Salvador et al.-en (2020) ikerketak adierazi zuen obesitatea erantzukizun pertsonalari egoztearen sinesmen estigmatizatzaileen ondorioz Espainiako osasun-langileak pazientean zentraturiko jokabide eskasa aurkezten zuela. Hala, zentzua du osasun langileek orokorrean tratamenduaren arrakastaren eta OP-ek tratamendua jarraitu eta mantentzeko duten gaitasunaren inguruko espektatiba negatiboak izatea.

Pazientearen generoari erreparatuz emakumeek jarrera negatibo gehiago jasotzen dituztela ikusi zen; hau bat dator gizon batek obesitatea izate sozialki onartuagoa dagoela seinalatzen duen berrikuspen sistematiko batekin (Wu et al., 2021). GMI handiagoa duten pertsonek eta elikadura nahasmenduekin erlazionaturiko sintomatologia aurkezten dutenek ere jarrera negatiboak adierazten dituzte; hortaz, obesitatea duen pertsona batek pertsona argalekiko lehentasun jakin bat adierazi dezake (Puhl et al., 2015).

6. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Obesitatearen estigmatizazioa murrizteko etorkizuneko osasun-profesionalek beren pisuaren alborapenez kontzientzia hartzeko gai izatea beharko lukete hauek deuseztatu ahal izateko. Horretarako beharrezkoa da hezkuntza interbentzioak burutzea eta obesitatearen kausa eta ondorioen ezagutza handitzea, baita obesitatearen estigmak haien osasun fisiko eta psikologikoan eta haien pazienteengan daukan eragina ere. Phelan et al.-ek (2015) helburu hau lortzeko baliagarriak izan daitezkeen estrategia multzo bat aipatu zituzten, hala nola enpatiaren ikuspuntua lantzeko ariketak gehitzea, mespretxuzko iruzkinekiko zero tolerantziaren politikak ezartzea eta emozio negatiboak erregulatzeko eta positiboak hobetzeko meditazioa gehitzea.

Obesitatearen estigmatizazioak osasun psikologikoan inpaktu handia duen fenomeno hedatua Psikologiako profesionalek obesitatearen estigmarekin erlazionatutako errua, lotsa eta alborapenen barnerapena eta ahalduntzea lantzen ikasi beharko lukete ebidentzia enpirikoa lortu duten terapien eta tresnen bidez (Pearl eta Puhl, 2016; Potts et al., 2022).

Era berean, pisuaren hurbilpen normatiboa ez dela pisu galera bilatzen duten pertsonen osasunarentzat onuragarria erakutsi da. Obesitatearen kausalitate anitza dela eta, dieta obesitatearen tratamendu bakar gisa ezartzeak denboran sostengaezinak diren emaitzak ditu eta osasun fisiko eta mentalean ondorio kaltegarriak ditu. Hortaz, gorputzari eta pisu galeraren hurbilpena pertsona guztien eta tamaina guztietako pertsonen osasun eta ongizatearen hurbilpenagatik ordezkatzen duten osasun ereduak integratzea proposatzen da (Tylka et al., 2014).

7. Bibliografia

Akoury, L. M., Schafer, K. J. eta Warren, C. S. (2019). Fat women's experiences in therapy: "You can't see beyond…unless I share it with you". *Women & Therapy, 42*(1–2), 93–115. https://doi.org/10.1080/02703149.2018.1524063

Alberga, A. S., Edache, I. Y., Forhan, M. eta Russell-Mayhew, S. (2019). Weight bias and health care utilization: a scoping review. *Primary Health Care Research & Development, 20*, e116. https://doi.org/10.1017/S1463423619000227

Alberga, A. S., Nutter, S., MacInnis, C., Ellard, J. H. eta Russell-Mayhew, S. (2019). Examining weight bias among practicing Canadian family physicians. *Obesity Facts, 12*(6), 632–638. https://doi.org/10.1159/000503751

Aweidah, L., Robinson, J., Cumming, S. eta Lewis, S. (2016). Australian diagnostic radiographers' attitudes and perceptions of imaging obese patients: A study of self, peers and students. *Radiography, 22*(4), e258–e263. https://doi.org/10.1016/j.radi.2016.06.002

Blanton, C., Brooks, J. K. eta Mcknight, L. (2016). Weight bias in university health professions students. *Journal of Allied Health, 45*(3), 212–218.

Bøker Lund, T., Brodersen, J. eta Sandøe, P. (2018). A study of anti-fat bias among Danish general practitioners and whether this bias and general practitioners' lifestyle can affect treatment of tension headache in patients with obesity. *Obesity Facts, 11*(6), 501–513. https://doi.org/10.1159/000493373

Bucher Della Torre, S., Courvoisier, D. S., Saldarriaga, A., Martin, X. E. eta Farpour-Lambert, N. J. (2018). Knowledge, attitudes, representations and declared practices of nurses and physicians about obesity in a university hospital: training is essential. *Clinical Obesity, 8*(2), 122–130. https://doi.org/10.1111/cob.12238

Cassiano, G. S., Carvalho-Ferreira, J. P., Buckland, N. J. eta da Cunha, D. T. (2021). Do registered dietitians, nutrition students, and laypeople perceive individuals with obesity differently? *International Journal of Environmental Research and Public Health, 18*(17), 8925. https://doi.org/10.3390/ijerph18178925

Diversi, T. M., Hughes, R. eta Burke, K. J. (2016). The prevalence and practice impact of weight bias amongst Australian dietitians. *Obesity Science & Practice,* 2(4), 456–465. https://doi.org/10.1002/osp4.83

Durso, L. E., Latner, J. D. eta Hayashi, K. (2012). Perceived discrimination is associated with binge eating in a community sample of non-overweight, overweight, and obese adults. *Obesity Facts, 5*(6), 869–880. https://doi.org/10.1159/000345931

Elboim-Gabyzon, M., Attar, K. eta Peleg, S. (2020). Weight stigmatization among physical therapy students and registered physical therapists. *Obesity Facts, 13*(2), 104–116. https://doi.org/10.1159/000504809

Escandón-Nagel, N. eta Larenas-Said, J. (2020). Actitudes antiobesidad, sintomatología alimentaria y significados asociados a la obesidad en estudiantes universitarios vinculados al área de la salud. *Nutrición Hospitalaria, 37*(2), 285–292. https://doi.org/10.20960/nh.02791

Hauff, C., Fruh, S. M., Sims, B. M., Williams, S. G., Herf, C., Golden, A., Graves, R. J., Minchew, L. A. eta Hall, H. R. (2020). Nurse practitioner students' observations of preceptor engagement in obesity management and weight bias: A mixed-methods approach. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners, 32*(7), 520–529. https://doi.org/10.1097/JXX.0000000000000440

Hemati, N. eta Zokaei, A. (2016). Attitudes and beliefs of nurses about excessive body weight and obesity. *Social Sciences, 11*(9), 2058–2065. https://doi.org/10.3923/sscience.2016.2058.2065

Khandalavala, B. N., Rojanala, A., Geske, J. A., Koran-Scholl, J. B. eta Guck, T. P. (2014). Obesity bias in primary care providers. *Family Medicine, 46*(7), 532–535.

Lewis, S. T. eta Van Puymbroeck, M. (2008). Obesity-stigma as a multifaceted constraint to leisure. *Journal of Leisure Research, 40*(4), 574–588. https://doi.org/10.1080/00222216.2008.11950153

Lillis, J., Thomas, J. G., Levin, M. E. eta Wing, R. R. (2020). Self-stigma and weight loss: The impact of fear of being stigmatized. *Journal of Health Psychology, 25*(7), 922–930. https://doi.org/10.1177/1359105317739101

Miller, D. P., Spangler, J. G., Vitolins, M. Z., Davis, S. W., Ip, E. H., Marion, G. S. eta Crandall, S. J. (2013). Are medical students aware of their anti-obesity bias? *Academic Medicine, 88*(7), 978–982. https://doi.org/10.1097/ACM.0b013e318294f817

Pantenburg, B., Sikorski, C., Luppa, M., Schomerus, G., König, H.-H., Werner, P. eta Riedel-Heller, S. G. (2012). Medical students' attitudes towards overweight and obesity. *Plos One, 7*(11), e48113. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048113

Pearl, R. L. eta Puhl, R. M. (2016). The distinct effects of internalizing weight bias: An experimental study. *Body Image, 17*, 38–42. https://doi.org/10.1016/j.bodyim.2016.02.002

Phelan, S. M., Burgess, D., Yeazel, M., Hellerstedt, W., Griffin, J. eta Ryn, M. van. (2015). Impact of weight bias and stigma on quality of care and outcomes for patients with obesity. *Obesity Reviews, 16*(4), 319. https://doi.org/10.1111/OBR.12266

Phelan, S. M., Dovidio, J. F., Puhl, R. M., Burgess, D. J., Nelson, D. B., Yeazel, M. W., Hardeman, R., Perry, S. eta Ryn, M. (2014). Implicit and explicit weight bias in a national sample of 4,732 medical students: The medical student CHANGES study. *Obesity, 22*(4), 1201–1208. https://doi.org/10.1002/oby.20687

Phelan, S. M., Puhl, R. M., Burgess, D. J., Natt, N., Mundi, M., Miller, N. E., Saha, S., Fischer, K. eta van Ryn, M. (2021). The role of weight bias and role-modeling in medical students' patient-centered communication with higher weight standardized patients. *Patient Education and Counseling, 104*(8), 1962–1969. https://doi.org/10.1016/j.pec.2021.01.003

Potts, S., Krafft, J. eta Levin, M. E. (2022). A pilot randomized controlled trial of acceptance and commitment therapy guided self-help for overweight and obese adults high in weight self-stigma. *Behavior Modification, 46*(1), 178–201. https://doi.org/10.1177/0145445520975112

Puhl, R. M., Latner, J. D., O'Brien, K., Luedicke, J., Danielsdottir, S. eta Forhan, M. (2015). A multinational examination of weight bias: predictors of anti-fat attitudes across four countries. *International Journal of Obesity, 39*(7), 1166–1173. https://doi.org/10.1038/ijo.2015.32

Puhl, R. M., Luedicke, J. eta Grilo, C. M. (2014). Obesity bias in training: Attitudes, beliefs, and observations among advanced trainees in professional health disciplines. *Obesity, 22*(4), 1008–1015. https://doi.org/10.1002/oby.20637

Robstad, N., Westergren, T., Siebler, F., Söderhamn, U. eta Fegran, L. (2019). Intensive care nurses' implicit and explicit attitudes and their behavioural intentions towards obese intensive care patients. *Journal of Advanced Nursing, 75*(12), 3631–3642. https://doi.org/10.1111/jan.14205

Rubino, F., Puhl, R. M., Cummings, D. E., Eckel, R. H., Ryan, D. H., Mechanick, J. I., Nadglowski, J., Ramos Salas, X., Schauer, P. R., Twenefour, D., Apovian, C. M., Aronne, L. J., Batterham, R. L., Berthoud, H. R., Boza, C., Busetto, L., Dicker, D., De Groot, M., Eisenberg, D., … Dixon, J. B. (2020). Joint international consensus statement for ending stigma of obesity. *Nature Medicine, 26*(4), 485–497. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0803-x

Sabin, J. A., Marini, M. eta Nosek, B. A. (2012). Implicit and explicit anti-fat bias among a large sample of medical doctors by BMI, race/ethnicity and gender. *Plos One, 7*(11), e48448. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048448

Salvador, J., Vilarrasa, N., Poyato, F. eta Rubio, M. Á. (2020). Perceptions, attitudes, and barriers to obesity management in Spain: Results from the Spanish cohort of the international ACTION-IO observation study. *Journal of Clinical Medicine, 9*, 2834. https://doi.org/10.3390/jcm9092834

Sánchez-Carracedo, D. (2022). El estigma de la obesidad y su impacto en la salud: una revisión narrativa. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, *69*(10), 868–877. https://doi.org/10.1016/j.endinu.2021.12.002

Sánchez-Carracedo, D., Medina, F. X., Fernández-Homar, J. eta Flint, S. W. (2021). Attitudes and beliefs about obesity among healthcare professionals in Spain. *Obesity Facts, 14*(Suppl. 1), 102. https://doi.org/10.1159/000515911

Schwenke, M., Luppa, M., Pabst, A., Welzel, F. D., Löbner, M., Luck-Sikorski, C., Kersting, A., Blüher, M. eta Riedel-Heller, S. G. (2020). Attitudes and treatment practice of general practitioners towards patients with obesity in primary care. *BMC Family Practice, 21*(1), 169. https://doi.org/10.1186/s12875-020-01239-1

Setchell, J., Watson, B., Jones, L., Gard, M. eta Briffa, K. (2014). Physiotherapists demonstrate weight stigma: a cross-sectional survey of Australian physiotherapists. *Journal of Physiotherapy, 60*(3), 157–162. https://doi.org/10.1016/j.jphys.2014.06.020

Seymour, J., Barnes, J. L., Schumacher, J. eta Vollmer, R. L. (2018). A qualitative exploration of weight bias and quality of health care among health care professionals using hypothetical patient scenarios. *INQUIRY: The Journal of Health Care Organization, Provision, and Financing, 55*, 1–6. https://doi.org/10.1177/0046958018774171

Sikorski, C., Luppa, M., Glaesmer, H., Brähler, E., König, H.-H. eta Riedel-Heller, S. G. (2013). Attitudes of health care professionals towards female obese patients. *Obesity Facts, 6*(6), 512–522. https://doi.org/10.1159/000356692

Sobczak, K. eta Leoniuk, K. (2021). Attitudes of medical professionals towards discrimination of patients with obesity. *Risk Management and Healthcare Policy, 14*, 4169–4175. https://doi.org/10.2147/RMHP.S317808

Soto, L., Armendariz-Anguiano, A. L., Bacardí-Gascón, M. eta Cruz, A. J. (2014). Beliefs, attitudes and phobias among mexican medical and psychology students towards people with obesity. *Nutrición Hospitalaria, 30*(1), 37–41. https://doi.org/10.3305/nh.2014.30.1.7512

Swift, J. A., Hanlon, S., El-Redy, L., Puhl, R. M. eta Glazebrook, C. (2013). Weight bias among UK trainee dietitians, doctors, nurses and nutritionists. *Journal of Human Nutrition and Dietetics, 26*(4), 395–402. https://doi.org/10.1111/jhn.12019

Tanneberger, A. eta Ciupitu-Plath, C. (2018). Nurses' weight bias in caring for obese patients: Do weight controllability beliefs influence the provision of care to obese patients? *Clinical Nursing Research, 27*(4), 414–432. https://doi.org/10.1177/1054773816687443

Tylka, T. L., Annunziato, R. A., Burgard, D., Daníelsdóttir, S., Shuman, E., Davis, C. eta Calogero, R. M. (2014). The weight-inclusive versus weight-normative approach to health: Evaluating the evidence for prioritizing well-being over weight loss. *Journal of Obesity, 2014*, 983495. https://doi.org/10.1155/2014/983495

Usta, E., Bayram, S. eta Altınbaş Akkaş, Ö. (2021). Perceptions of nursing students about individuals with obesity problems: Belief, attitude, phobia. *Perspectives in Psychiatric Care, 57*(2), 777–785. https://doi.org/10.1111/ppc.12613

Waller, T., Lampman, C. eta Lupfer-Johnson, G. (2012). Assessing bias against overweight individuals among nursing and psychology students: an implicit association test. *Journal of Clinical Nursing, 21*(23–24), 3504–3512. https://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2012.04226.x

Wang, Y., Ding, Y., Song, D., Zhu, D. eta Wang, J. (2016). Attitudes toward obese persons and weight locus of control in Chinese nurses. *Nursing Research, 65*(2), 126–132. https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000145

Warr, W., Aveyard, P., Albury, C., Nicholson, B., Tudor, K., Hobbs, R., Roberts, N. eta Ziebland, S. (2021). A systematic review and thematic synthesis of qualitative studies exploring GPs' and nurses' perspectives on discussing weight with patients with overweight and obesity in primary care. *Obesity Reviews, 22*(4), e13151. https://doi.org/10.1111/obr.13151

Welsh, S., Salazar-Collier, C., Blakeslee, B., Kellar, L., Maxwell, R. A., Whigham, L. D., Lee, M. eta Lindheim, S. R. (2021). Comparison of obstetrician-gynecologists and family physicians regarding weight-related attitudes, communication, and bias. *Obesity Research & Clinical Practice, 15*(4), 351–356. https://doi.org/10.1016/j.orcp.2021.04.010

Wu, H. X., Ching, B. H.-H., He, C. C. eta Li, Y. (2021). "Thinness is beauty": Predictors of anti-fat attitudes among young Chinese women. *Current Psychology*, 1–12. https://doi.org/10.1007/s12144-021-02021-x

Yildiz, M. eta Yalcinoz Baysal, H. (2019). Prejudice against obesity in university students studying in health-related departments. *Perspectives in Psychiatric Care, 55*(2), 170–174. https://doi.org/10.1111/ppc.12314

Yılmaz, H. Ö. eta Yabancı Ayhan, N. (2019). Is there prejudice against obese persons among health professionals? A sample of student nurses and registered nurses. *Perspectives in Psychiatric Care, 55*(2), 262–268. https://doi.org/10.1111/ppc.12359

8. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Psikologiako Gradu Amaierako lan batetik eratorria da, eta Eusko Jaurlaritzako 2022-2023 ikasturterako Ikasiker lankidetza-bekaren pean gauzatu da.

Lehen mailako prebentzio programa baten eragina nerabeen obesitatearen prebentzioan eta ongizate emozionalaren sustapenean. "Nerabeak astintzen" ikerketaren protokoloa

Jone Galdos (1), Karmele Salaberria (1,2), Pello Uriarte (3), Tamara Gomez (1), Amaia Díaz de Monasterioguren (4), Malen Ruiz de Azúa (5), Eva Pereda-Pereda (2,6)

(1) *Psikologia Klinikoa eta Osasunaren Psikologia eta Ikerketa Metodologia Saila, Psikologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU),* (2) *Biodonostia, Osasun Mentala eta Arreta Psikiatrikoaren Taldea,* (3) *POZ Zerbitzua, Oñatiko Udala,* (4) *Dietista-nutrizionista, Oñati, (5) Mugiment proiektua, Arrasate,* (6) *Vitoria-Gasteizko Erizaintzako Unibertsitate Eskola, Osakidetza*

jonegaldos@gmail.com

Laburpena

Orain arte obesitatearen inguruan egindako ikerketa gehiena honen prebentziora bideratu da. Obesitatearen tratamendurako terapia kognitibo-konduktualaren eraginkortasuna frogatuta dagoen arren nahasmendu komorbidoetan honen eraginkortasuna baxuagoa dela ikusi da. Hori dela eta emozioen erregulaziorako transdiagnostikoan oinarritutako lehen mailako prebentzio programa baten eraginkortasuna aztertu nahi da. Aurkezten den programaren bidez nerabeen ondoez emozionala eta aurre egite estrategia desegokiak gutxitzea eta baliabide pertsonalak gehitzea, elikadura- eta ariketa fisikorako ohiturak hobetzea eta parametro antropometriko, biologiko eta endokrinoak erregulatzea espero da.

Hitz-gakoak: obesitate pediatrikoa, gorputz-masaren indizea, gorputz-irudia, nerabezaroa, arazo emozionalak, transdiagnostikoa, prebentzio unibertsala.

Abstract

Most of the research on obesity to date has focused on obesity prevention. Although cognitive behavioural therapy's efficacy for treating obesity has been demonstrated, its efficacy in comorbid disorders has been found to be lower. Therefore, we aim to analyse the efficacy of a transdiagnostic-based primary prevention programme for emotional regulation. The programme presented hopes to reduce adolescents' emotional distress and inadequate coping strategies and increase personal resources, improve eating and physical exercise habits and regulate anthropometric, biological and endocrine parameters.

Key words: pediatric obesity, body mass index, body image, adolescence, emotional problems, transdiagnostic, universal prevention.

1. Sarrera eta motibazioa

Gainpisua eta obesitatea osasunerako arriskutsua den koipe-pilaketa anormal gisa definitzen dira (Osasunaren Munduko Erakundea, 2020). Espainiako azken Osasun Inkesta Nazionalaren arabera, 15-17 urteko biztanleriaren % 17,8ak gainpisua du eta % 2,9ak obesitatea (Osasun Ministeritza, 2020).

Obesitatea nagusiki haurtzaroan edo nerabezaroan hasten den gaixotasun kronikoa da, sorrera heterogeneo eta faktore anitzekoa duena. Bere etiologian faktore biologikoak (sexua, adina, aurrekari familiarrak, haurdunaldian zeharreko amaren elikadura, etab.) eta testuingurukoak (dieta, jarduera fisikoa, loa, pantailen erabilera, maila sozioekonomikoa, gurasoen heziketa-maila, familia-egitura, etab.) barne hartzen dira (Escudero et al., 2018; Wilfey et al., 2019).

2. Arloko egoera eta helburuak

Gehiegizko pisua duten adingabeek arrisku handiagoa dute gaixotasun ez-transmitigarriak garatzeko, besteak beste, intsulinarekiko erresistentzia, bigarren motako diabetesa edo hazkuntzaren hormonarekiko erantzun baxuagoa (Egan et al., 2013; Kozioł-Kozakowska et al., 2019; Kumar eta Kelly, 2017). Parametro endokrinoei dagokienez, badirudi bi noranzko harremana dagoela gorputzaren pisuaren eta estres-sistemaren artean, izan ere, jaio aurretiko

estres-hormonen esposizioak paper garrantzitsua jokatzen du eskuetako hatzen hazkuntzan, eta era berean, androgenoek gure gorputzeko gantzaren erregulazioan (Kitani et al., 2022; Ma et al., 2022; Strait et al., 2018). Wu et al.-ek (2019) mutilengan bigarren digitua (2D) zuzenean gehiegizko pisuarekin eta zeharka testosteronarekin lotuta zegoela aurkitu zuten.

Haur eta nerabeen obesitateari lotutako erikortasun psikologiko negatiboak ere badaude (Ismail et al., 2021). Adibidez, gorputz-asegabetasuna eta -irudiaren gaineko gizarte-presioa arrisku-faktore garrantzitsuak dira elikadura jokaeraren nahasmenduak garatzeko (Leppers et al., 2017). Honez gain, betekadak eta elikaduraren gaineko kontrol galerak nagusiagoak dira obesitatea duten adingabeengan. Harreman hori obesitateak gizartean duen eraginaren ondorio izan daiteke, honek isolamendua bezalako jokaera barneratzaileak bultzatu ditzakeelarik (Morales et al., 2019; van Geel et al., 2014).

Horri dagokionez, gainpisua eta obesitatea duten nerabeek arrisku handiagoa dute antsietate- eta depresio-sintomak izateko, erregulazio emozionaleko zailtasunengatik azaldu daitekeena (Puder eta Munsch, 2010; Quek et al., 2017). Honez gain, oldarkortasunaren kontrol (Thamotharan et al., 2013) eta autoestimu baxuagoa dute (Blanco et al., 2019). Erikortasun-tasa altu hau ondoez emozional ezberdinen sortze eta mantentzean dauden izaera-faktore eta faktore biologiko eta testuinguruko amankomunen ondorio da (Ehrenreich-May et al., 2017, 2018; Nehmy eta Wade, 2014; Seager et al., 2014; Sherman eta Ehrenreich-May, 2020).

Obesitatearen maneiurako terapia kognitibo-konduktualaren eraginkortasuna jada frogatuta dago (Baile et al., 2020). Hala ere, honen inguruan egindako ikerketa gehiena obesitatearen prebentzio programetara bideratu da elikadura eta ariketa fisikorako ohitura osasuntsuak sustatzeko helburuarekin. Interbentzio horietan obesitateak barne hartzen dituen aldagai psikologikoetan aktiboki eskua ez hartzean, benetan gaixotasun honen jatorri eta mantentzean dauden jarrera eta jokaeretan aldaketa trinko eta iraunkorrak eragiten ez dituztela ikusi da (Lasikiewicz et al., 2014). Gainera, nahasmendu emozionalen erikortasuna horren altua izatean terapia kognitibo-konduktualeko interbentzioetan nahasmendu emozional komorbidoak dituzten haur eta nerabeengan tratamenduarekiko erantzuna baxuagoa dela ikusi da (Barlow et al., 2017).

Horri erantzuna emateko tratamendu transdiagnostikoak sortu dira. Hauek barne hartzen dituzten terapia kognitibo-konduktualeko eta hirugarren belaunaldiko teknikak nahasmendu horiek amankomunean dituzten aldagaietan esku hartzera bideratzen dira (Barlow et al., 2017; Ehrenreich-May et al., 2022). Horregatik interbentzio bakarraren bidez arazo ezberdinei heldu ahal izango zaie, esaterako, obesitatearekin batera ematen diren erikortasun psikologikoei (Ehrenreich-May et al., 2022).

Gaur egun badago nahasmendu emozionalen tratamendu transdiagnostikoen eraginkortasunaren ebidentzia helduengan (UP) (Barlow et al., 2016), haurrengan (UP-C) (Ehrenreich-May eta Bilek, 2011) eta nerabeengan (UP-A) (Ehrenreich-May et al., 2017). Honez gain, UP-Aren eraginkortasuna nahasmendu emozionalen lehen mailako prebentzio programa moduan ere ikertu da (García-Escalera et al., 2020). Esku-hartze horietan tratamendu transdiagnostikoa jaso zuten pertsonengan ondoez psikologikoa orokorrean jaitsi egin zela ikusi zuten, esaterako, antsietate- eta depresio-sintomatologia gutxituz (Ehrenreich-May et al., 2017).

2.1. Ikerketaren helburua

Hau dena ikusirik, ikerketa honen helburu nagusia nerabeen emozioen maneiu egoki baterako transdiagnostikoan oinarritutako prebentzio programa baten eragina aztertzea da.

Bigarren mailako helburuei dagokienez, programak nerabeen parametro antropometriko, biokimiko eta endokrinoetan duen eragina aztertu nahi da. Nerabeen gorputzeko gantz kantitatea jaistea eta masa muskularra gehitzea eta lipido- eta glukosa-mailak erregulatzea espero da. Horrez gain, programak nerabeen elikadura eta ariketa fisikorako ohituretan duen eragina aztertu nahi da. Nerabeen tentsio arterialaren balioak jaitsi edo mantentzea eta dieta mediterraneoari lotura eta ariketa fisikoa gehitzea espero da. Bestalde, programak arazo emozional eta jokaerazkotan duen eragina aztertu nahi da. Alde batetik, antsietate- eta depresio-sintomatologiaren, arreta- eta oldarkortasun-arazoen, erregulazio emozionalerako arazoen eta gorputz-asegabetasun eta -distortsioaren puntuazioak jaistea espero da eta bestetik, baliabide pertsonalen puntuazioak gehitzea. Azkenik, programaren emaitzek epe ertain eta luzera irauten duten aztertu nahi da neurketak hiru, sei eta hamabi hilabetetara errepikatuz. Emaitzak epe ertain eta luzera mantenduko direla espero da.

3. Metodologia

3.1. Parte-hartzaileak

Ikerketa Oñatiko hiru institutuetan Derrigorrezko Bigarren Hezkuntzako (DBH) 4. mailako ikasleekin eramango da aurrera, lagina 15 eta 16 urte bitarteko 106 nerabez osatuta dago.

3.2. Diseinua eta prozedura

Programaren diseinua longitudinal, analitiko eta ia-esperimentala da. Osakidetzako Etika Batzordeko aldeko txostena jaso ondoren (kodea: PER-NER-2022-01), institutuekin kontaktuan jarri eta bertako zuzendaritza taldeari eta ikasleei programa azalduko zaie. Gurasoen zein nerabeen baimenak jasoko dira eta ebaluazioari ekin egingo zaio.

Taldeak osatzeko prozedurari dagokionez, taldeak eskolako gelen arabera osatuko dira baina hauek zoriz banatuko dira talde esperimental eta kontrolera. Hiru eskoletatik bik lehen jasoko dute interbentzioa (23 ikaslez osatutako talde bat eta 25 ikaslez osatutako bi talde) eta hirugarren institutuak itxaron zerrendan dagoen kontrol talde moduan jokatuko du (16 eta 17 ikaslez osatutako bi talde), interbentzioa bi hilabete beranduago jasoko dutelarik. Programaren aplikazioan saioen, denbora-espazioaren, terapeuten eta saioen estrukturaren konstantzia mantenduko dira.

Neurketei dagokienez, hauek institutuetan bertan eramango dira aurrera eta honetarako psikologoez, kirol-teknikari eta entrenatzaileez, dietista-nutrizionistez eta erizainez kontatzen da. Talde esperimentaletan programa aurreko neurketak 2022-2023 ikasturteko bigarren hiruhilekoaren hasieran eramango dira aurrera eta programa ondorengoak hirugarrenaren hasieran. Aldiz, itxaron zerrendako kontrol taldean programa aurreko neurketak 2022-2023 ikasturteko bigarren eta hirugarren hiruhilekoan eramango dira aurrera eta programa ondorengoak hirugarren hiruhilekoaren bukaeran. Neurketak 3, 6 eta 12 hilabetetara errepikatuko dira. Ondorengo kronograman azaltzen da informazio zehatzagoa:

2022-2023	Ira	Urr	Aza	Abe	Urt	Ots	Mar	Api	Mai	Eka	Uzt	Abu
Etika batzordean eskaria egin												
Saioak prestatu												
Parte hartzaileekin bilera informatzailea eta BI banatu												
BI batu eta erregistratu datak jasotzeko												
TE lehenengo ebaluazioa (Pre)												
TE interbentzioa												
TE bigarren ebaluazioa (Post)												
KT lehenengo ebaluazioa (Pre)												
KT bigarren ebaluazioa (Pre)												
KT interbentzioa												
KT hirugarren ebaluazioa (Post)												
TE hirugarren ebaluazioa (3 hilabete)												
Datuen analisia												
Emaitzak idatzi												
2023-2024	Ira	Urr	Aza	Abe	Urt	Ots	Mar	Api	Mai	Eka	Uzt	Abu
TE laugarren ebaluazioa (6 hilabete)												
KT laugarren ebaluazioa (3 hilabete)												
TE bosgarren ebaluazioa (12 hilabete)												
KT bosgarren ebaluazioa (6 hilabete)												
KT seigarren ebaluazioa (12 hilabete)												
Datuen analisia												
Emaitzak idatzi												

BI= Baimen informatua; TE= Talde esperimentala; KT= Kontrol taldea

3.3. Interbentzioa

Programa talde esperimentalean 2023ko otsailetik martxora bitartean aplikatutako sei asteetako talde interbentzio bat izango da. Kontrol taldean 2023ko apiriletik maiatzera aplikatuko da. Lehenengo saioan programa azalduko da. Saio honen helburuak nerabeek

programa ezagutzea, programarekiko lotura eta motibazioa sustatzea, harreman terapeutiko egokia sortzea eta oinarrizko emozioen psikohezkuntza egitea da.

Bigarren saioko helburuak, "sentsazio fisikoak lantzen" deritzona, nerabeengan sentsazio fisikoen psikohezkuntza egitea, sentsazio fisikoak identifikatzen ikastea eta hauek erregulatzeko erlaxazio tekniketan entrenatzea dira.

Hirugarren saioan helburua pentsamendu osasuntsuak sustatzea da. Horretarako nerabeengan pentsamendu kaltegarrien psikohezkuntza egingo da eta pentsamendu osasuntsuagoak sustatzeko malgutasun kognitiboa landuko da.

Laugarren saioko helburua jokaera osasuntsuak sustatzea da. Saio honen helburuak nerabeengan jokaeren psikohezkuntza egitea eta jokaera osasuntsuak sustatzeko baliabideak eskaintzea dira.

Bosgarren saioak gaitasun sozialetan entrenatzea du helburu. Horretarako nerabeak komunikazio estilo asertiboa eta entzute aktiboan entrenatzea eta goraipamenak egiten, mugak jartzen, eskaerak egin eta jasotzen eta kritika destruktibo eta konstruktiboen artean bereizten ikasiko dute. Pertsonarteko elkarrekintzetan ditugun eskubide eta erantzukizunak ere landuko dira.

Azken saioak ikasitakoa orokortzea du helburu; ikasitako eduki eta baliabide guztien laburpena egitea, haientzat erabilgarriak diren estrategia horiek identifikatzea eta programaren balorazioa egitea.

4. Ebaluazio-tresnak

Galde-sortak euskaraz eta gazteleraz idatzita egongo dira. Hauek dira jasoko diren datuak:

1) Datu soziodemografikoak: nerabeen sexua, jaiotze-data, jaioterria eta gurasoen heziketa-maila.
2) Datu antropometrikoak: pisua, altuera, gorputz-masaren indizea, gerri eta aldaka zirkunferentzia eta inpedantzia bioelektrikoa erabiliz gorputzaren konposizioa neurtuko da.
3) Datu biologikoak: bena ziztada bidezko odol ateratzearekin glukosa, kreatinina, urea, GPT, GOT, gammaGT, fosfatasa, alanina, bilirrubina totala, kolesterola, azido urikoa, sodioa, potasioa, kaltzioa eta proteina totalak neurtuko dira.
4) Datu endokrinoak: listuko kortisol-, estradiol- eta testosterona mailak, ileko kortisol-mailak eta 2D:4D teknikaren bidez testosterona-mailak neurtuko dira.
5) Elikadura ohiturak: KIDMED galdetegiaren bidez neurtuko dira (Serra-Majem et al., 2004).
6) Ariketa fisikorako ohiturak: ariketa fisikoaren nazioarteko galdetegiaren (IPAC) bertsio motzaren bidez neurtuko dira (Booth, 2000).
7) Arlo emozionala eta jokaerazkoa: haur eta nerabeen ebaluazio sistemaren (SENA) 12 eta 18 urteko nerabeentzako autoinformearen bidez neurtuko da (Fernández-Pinto et al., 2015). Gorputz-asegabetasuna eta -distortsioa: nerabeentzako silueten testaren (TSA) bidez neurtuko da (Maganto eta Cruz, 2008).

5. Esperotako emaitzak

Ondoeza emozionala eta jokaera arazoak gutxitzeko hipotesiak beteko balira jokabide obesogenikoen eta barneratzaileen azpian dauden erregulazio emozionaleko zailtasunak gutxitu eta baliabide pertsonalak gehituko lirateke. Zehazki, maila emozionalean nerabeen antsietate- eta depresio-sintomatologiako puntuazioak eta oldarkortasun-maila altuen puntuazioak jaitsiko lirateke. Era berean, maila kognitiboan nerabeen distortsio kognitiboak gutxituko lirateke, adibidez gorputz-distortsio eta -asegabetasuna. Honek beren autokontzeptu eta autoestimua indartzea ekarriko luke.

Jokaera mailan nerabeen aurre egite estrategia disfuntzionalak gutxituko lirateke egoera ezberdinen aurreko baliabide gehiago garatuko luketelako, esaterako elikaduraren aurreko kontrol galera (edo gehiegizko kontrolerako joera) bezalako jokaera desegokiak eta elikadura-jokabidearen nahasmenduak garatzeko arriskua gutxituko lirateke. Gorputz-irudiaren inguruko berregituraketa kognitiboaren bidez eta honen aniztasunaren tolerantzia sustatuz nerabeen jokaera prosozialak bultzatu eta isolamendua bezalako jokaera barneratzaileak ekidingo lirateke.

Honez gain, nerabeen elikadura eta ariketa fisikorako ohiturak hobetuko lirateke dieta mediterraneorako lotura handituz eta jarduera fisiko kantitatea erregulatuz.

Azkenik, interbentzioaren helburua kanpotik erregulatutako esku-hartze bat izan beharrean nerabeen jarrera eta jokaeren aldaketan oinarritzen denez emaitzak epe ertainera eta luzera irautea espero dugu.

6. Ondorioak

Orain arte adingabeen gainpisu eta obesitatearen inguruan egindako ikerketa gehiena obesitatearen prebentziora bideratu da eta honek askotan tratamendua ez-integrala izatea ekarri du (Lasikiewicz et al., 2014). Haur eta nerabeen obesitatearen sorrera eta mantentzean faktore psikologikoek duten garrantzia ikusirik (Hemmingsson, 2014; Ismail et al., 2021), ikerketa honen helburua nerabeen emozioen maneiurako prebentzio programa baten eraginkortasuna aztertzea da.

Interbentzio honen bidez nerabeengan ongizate psikosoziala sustatzea eta bizi-kalitatea hobetzea espero da. Gaur egungo gizartean pisuari ematen zaion garrantziaren eta kutsu negatiboaren inguruko egiturazko arazoa dago, izan ere, eskoletan, kiroldegietan, osasun zentroetan edo komunikabideetan besteak beste, obesitatearekin lotutako aurreiritzi eta estereotipoak igortzen jarraitzen dira. Esaterako, oraindik gaur egun obesitatea duten pertsonak nagi, ezgauza edo beren burua kontrolatzeko gai ez diren pertsona moduan sailkatzen dira (Tanas et al., 2020). Literaturaren arabera, gainpisua edo obesitatea duten nerabeek beren berdinkideengandik, gurasoengandik, irakasleengandik edo osasunaren promozioan lan egiten duten profesionalen eskutik jazarpena jasotzeko aukera gehiago dute (Ismail et al., 2021). Gaixotasun honen aurreko estigmak pertsona hauengan arazo psikologikoak garatzea eragiteaz gain (Gmeiner eta Warschburger, 2020), nerabe hauek arlo ezberdinetan arrakasta izateko duten gaitasun erreala gutxiesten ikasten dute, amaiera gabeko zikloan eroriz (Ismail et al., 2021).

Pisuaren murrizketan zentratzen diren obesitatearen aurreko interbentzioek gai honen inguruko estigma eta arlo ezberdinetan arrakasta izateko gaitasun ezaren ikaskuntza hori elikatzen jarraitu dezakete, horregatik interbentzio hauen epe luzerako eragina zalantzagarria da (Alberga et al., 2016). Bestalde, emozioen erregulaziorako interbentzioetan emozioen identifikazioa, ulermena eta tolerantzia sustatzen da, modu honetan aurre egite estrategia desegokiak (gehiegizko elikadura emozionala, esaterako) martxan jartzeko zaurgarritasuna gutxitzen da eta egoerei aurre egiteko estrategia egokitzaileak garatzen ikasten da, esaterako, esposizioa, erlaxazioa edo distrakzioa izan daitezkeenak. Era berean, berregituraketa kognitiboaren bidez ikasleen artean pisuaren eta osasunaren harremanaren arteko eta gorputz-irudiaren inguruko sinesmen desegokiak landu daitezke, jazarpen-maila gutxitu dezaketenak. Obesitatea pairatzeko arriskuan dauden ikasle horiekin autoefikazia landu daiteke, zeina ezinbestekoa den elikadura eta ariketa fisikorako ohituretan aldaketak emateko (Aparicio et al., 2016; Ehrenreich–May et al., 2022; Tronieri et al., 2019).

Gaur egun frogatuta dago terapia kognitibo-konduktualeko eta hirugarren belaunaldiko teknikak erabiltzen dituzten obesitatearen tratamendurako esku-hartzeen eraginkortasuna. Interbentzio horietan parametro antropometriko, biologiko eta endokrinoetan aldaketak ekartzeaz gain, ongizate emozional, sozial, akademikoa eta ondorioz hautemandako bizi-kalitatea hobetzen dela ikusi da (Baile et al., 2020; Baños et al., 2019; Miri et al., 2019; Weinreich et al., 2017).

Transdiagnostikoan oinarritutako interbentzioek terapia kognitibo-konduktualek bezain besteko eraginkortasuna dutela frogatuta dago (Barlow et al., 2017). Hala ere pausu bat haratago doaz, izan ere, arazo emozional ezberdinen oinarrian dauden ezaugarrietan esku-hartzen dute, hau da, sintomatologia anitzagoari heltzen diote (Barlow et al., 2014; Tonarely et al., 2020). Arrazoi hori dela eta jarrera eta jokaeretan aldaketa iraunkorragoak sortzen dituzte, jada transdiagnostikoan oinarritutako esku-hartzeei esker emandako aldaketak sei hilabetetara ere mantentzen direla frogatuta dagoelarik (Bullis et al., 2014).

7. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Emozioen erregulazioan oinarritutako obesitatearen prebentzio programa hau arreta fokua pisutik kendu eta gorputz-irudiaren aniztasunarekiko tolerantzia garatzea bada ere, oraindik pisuari lotutako estigma bultzatzen duen gizarteko egituren aurrean lan asko dago egiteko. Hau

dela eta berebiziko garrantzia du sistema ezberdinetan (maila indibidualean, eskola -mailan, komunitate-mailan edota arreta primarioan) arazo honi aurre egiteko kontzientzia eta sentsibilizazioa sustatzea, bakoitzak egiturazko arazo hau aldatzean duen erantzukizuna hartzeko. Egin daitezken aldaketa horien adibide dira herri eta hirietan parke edo jolasleku gehiago jartzea eta janari lasterraren jatetxe kopurua murriztea, sentsibilizazio kanpainak bultzatzea, estigma gutxitzeko eta osasunaren promozioa bultzatzeko duten arau eta legeak aldatzea edo osasun profesionalentzat, irakasleentzat edo gurasoentzat ikastaroak aplikatzea.

8. Erreferentziak

Alberga, A. S., Pickering, B. J., Alix Hayden, K., Ball, G. D. C., Edwards, A., Jelinski, S., Nutter, S., Oddie, S., Sharma, A. M. eta Russell-Mayhew, S. (2016). Weight bias reduction in health professionals: a systematic review. *Clinical Obesity*, *6*(3), 175–188. https://doi.org/10.1111/cob.12147

Aparicio, E., Canals, J., Arija, V., Henauw, S. D. eta Michels, N. (2016). *The role of emotion regulation in childhood obesity : implications for prevention and treatment Nutrition Research Reviews Nutrition Research Reviews*. 17–29. https://doi.org/10.1017/S0954422415000153

Baile, J. I., González Calderón, M. J., Palomo, R. eta Rabito Alcón, M. F. (2020). Psychological intervention of obesity: development and perspectives. *Revista Clínica Contemporánea*, *11*(e3), 1–14. https://doi.org/10.5093/cc2020a1

Baños, R., Oliver, E., Navarro, J., Vara, M., Cebolla, A., Lurbe, E., Pitti, J., Torró, M. eta Botella, C. (2019). Efficacy of a cognitive and behavioral treatment for childhood obesity supported by the ETIOBE web platform. *Psychology, Health and Medicine*, *24*(6), 703–713. https://doi.org/10.1080/13548506.2019.1566622

Barlow, D.H, Farchione, T., Bullis, J., Gallagher, M., Murray-Latin, H., Sauer-Zavala, S., Bentley, K. H., Thomson-Holland, J., Conclin, L., Bowsbell, J., Ametaj, A., Carl, J. R., Boettcher, H. eta Cassiello-Robbins, C. (2017). The Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders Compared With Diagnosis-Specific Protocols for Anxiety Disorders. A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*, *74*(9), 875–884. https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2017.2164

Barlow, D.H, Farchione, T., Fairholme, C., Ellard, K.., Boisseau, C., Allen, L. eta Ehrenreich-May, J. (2016). *Protocolo unificado para el tratamiento trandiagnóstico de los trastornos emocionales*. Madrid: Alianza Editorial.

Barlow, David H., Sauer-Zavala, S., Carl, J. R., Bullis, J. R., eta Ellard, K. K. (2014). The nature, diagnosis, and treatment of neuroticism: Back to the future. *Clinical Psychological Science*, *2*(3), 344–365. https://doi.org/10.1177/2167702613505532

Blanco, M., Solano, S., Alcántara, A. ., Parks, M., Roman, F. eta Sepúlveda, A. (2019). Psychological well-being and weight-related teasing in chilhood obesity: a case-control study. *Eating and Weight Disorders*, *25*(3), 751–759. https://doi.org/10.1007/s40519-019-00683-y

Booth, M. (2000). Assessment of physical activity: An international perspective. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, *71*(2), 114–120. https://doi.org/10.1080/02701367.2000.11082794

Bullis, J. R., Fortune, M. R., Farchione, T. J. eta Barlow, D. H. (2014). A Preliminary Investigation of the Long-Term Outcome of the Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders. *Compr Psychiatry*, *55*(8), 1920–1927. https://doi.org/10.1016/j.comppsych.2014.07.016

Egan, K. B., Ettinger, A. S. eta Bracken, M. B. (2013). Childhood body mass index and subsequent physician-diagnosed asthma: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Pediatrics*, *13*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/1471-2431-13-121

Ehrenreich-May, J. eta Bilek, E. L. (2011). Universal prevention of anxiety and depression in a recreational camp setting: An initial open trial. *Child and Youth Care Forum*, *40*(6), 435–455. https://doi.org//10.1007/s10566-011-9148-4

Ehrenreich-May, J., Kennedy, S., Sherman, J. A., Bilek, E., Buzzella, B., Bennett, S. eta Barlow, D. (2022). *Protocolo unificado para el tratamiento transdiagnóstico de los trastornos emocionales en niños y adolescentes. Manual del terapeuta*. Pirámide.

Ehrenreich-May, J., Kennedy, S. M., Sherman, J. A., Bennet, S. M. eta Barlow, D. H. (2018). *Protocolo unificado para el tratamiento transdiagnóstico de los trastornos emocionales en adolescentes: Manual del paciente*. Oxford University Press.

Ehrenreich-May, J., Rosenfield, D., Queen, A. H., Kennedy, S. M., Remmes, C. S. eta Barlow, D. H. (2017). An initial waitlist-controlled trial of the unified protocol for the treatment of emotional disorders in adolescents. *Journal of Anxiety Disorders*, *46*, 46–55. https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2016.10.006

Ehrenreich–May, J., Kennedy, S. M., Sherman, J. A., Bilek, E. L., Buzzella, B. A., Bennet, S. M. eta Barlow, D. H. (2022). *Protocolo unificado para el tratamiento transdiagnóstico de los trastornos emocionales en niños y adolescentes. Manual del terapeuta.* Ediciones pirámide.

Escudero Otxandorena, I., Pereda-Pereda, E., Babarro Vélez, I. eta Aurrekoetxea, J. (2018). Gehiegizko pisua 0-7 urteko adineko umeengan. Arrisku-faktoreak. *Osagaiz: Osasun-Zientzien Aldizkaria*, *2*(2), 47–64. https://doi.org/10.26876/osagaiz.2.2018.185

Fernández-Pinto, I., Santamaría, P., Sánchez-Sánchez, F., Carrasco, M. Á. eta del Barrio, V. (2015). *SENA. Sistema de Evaluación de Niños y Adolescentes. Manual de aplicación, corrección e interpretación.* TEA

Ediciones.

García-Escalera, J., Valiente, R. M., Sandín, B., Ehrenreich-May, J., Prieto, A. eta Chorot, P. (2020). The Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders in Adolescents (UP-A) Adapted as a School-Based Anxiety and Depression Prevention Program: An Initial Cluster Randomized Wait-List-Controlled Trial. *Behavior Therapy*, *51*(3), 461–473. https://doi.org/10.1016/j.beth.2019.08.003

Gmeiner, M. S. eta Warschburger, P. (2020). Intrapersonal predictors of weight bias internalization among elementary school children: A prospective analysis. *BMC Pediatrics*, *20*(1), 1–9. https://doi.org/10.1186/s12887-020-02264-w

Hemmingsson, E. (2014). A new model of the role of psychological and emotional distress in promoting obesity: conceptual review with implications for treatment and prevention. *Obesity Reviews*, *15*(9), 697–779. https://doi.org/10.1111/obr.12197

Ismail, F., Ag. Daud, D. M. eta Ligadu, C. P. (2021). Overweight and Obese Children's Psychosocial Effects: A Review of the Literature. *International Journal of Academic Research in Business and Social Sciences*, *11*(9), 732–745. https://doi.org/10.6007/ijarbss/v11-i9/11062

Kitani, R. A., Letsou, K., Kokka, I., Kanaka-Gantenbein, C. eta Bacopoulou, F. (2022). Difference in Hair Cortisol Concentrations between Obese and Non-Obese Children and Adolescents: A Systematic Review. *Children*, *9*, 715. https://doi.org/10.3390/children9050715

Kozioł-Kozakowska, A., Wójcik, M., Furtak, A., Januś, D. eta Starzyk, J. B. (2019). A comparison of the impact of two methods of nutrition-behavioral intervention on selected auxological and biochemical parameters in obese prepubertal children—crossover preliminary study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(16), 1–12. https://doi.org/10.3390/ijerph16162841

Kumar, S. eta Kelly, A. S. (2017). Review of Childhood Obesity: From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, *92*(2), 251–265. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.09.017

Lasikiewicz, N., Myrissa, K., Hoyland, A. eta Lawton, C. (2014). Psychological benefits of weight loss following behavioural and/or dietary weight loss interventions. A systematic research review. *Appetite*, *72*, 123–137. https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.09.017

Leppers, I., Tiemeier, H., Swanson, S. A., Verhulst, F. C., Jaddoe, V. W. V., Franco, O. H. eta Jansen, P. W. (2017). Agreement between Weight Status and Perceived Body Size and the Association with Body Size Satisfaction in Children. *Obesity*, *25*(11), 1956–1964. https://doi.org/10.1002/oby.21934

Ma, L., Liu, X., Yan, N., Gan, Y., Wu, Y., Li, Y., Chu, M., Chiu, D. T. eta Ma, L. (2022). Associations Between Different Cortisol Measures and Adiposity in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Nutrition*, *9*. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.879256

Maganto, C. eta Cruz, M. S. (2008). *TSA. Test de Siluetas para Adolescentes.* TEA Ediciones.

Miri, S., Javadi, M., Lin, C.Y., Griffiths, M. D., Bjork, M. eta Pakpour, A. (2019). Effectiveness of cognitive-behavioral therapy on nutrition improvement and weight of overweight and obese adolescents: A randomized controlled trial. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, *13*(3), 2190–2197. https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.05.010

Morales, D., Grineski, S. eta Collins, T. (2019). School bullying, body size, and gender: an intersectionality approach to understanding US children's bullying victimization. *Journal of Sociology of Education*, *40*(8), 1121–1137. https://doi.org/10.1080/01425692.2019.1646115

Nehmy, T. J. eta Wade, T. D. (2014). Reduction in the prospective incidence of adolescent psychopathology: A review of school-based prevention approaches. *Mental Health and Prevention*, *2*, 66–79. https://doi.org/10.1016/j.mhp.2014.11.002

Osasun Ministeritza. (2020). *Encuesta Nacional se Salud España 2020. Determinantes de salud.*

Osasunaren Mundu Erakundea. (2020). *Obesidad y sobrepeso.* https://www.who.int./es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

Puder, J. eta Munsch, S. (2010). Psychological correlates of childhood obesity. *International Journal of Obesity*, *34*(S2), S37-43. https://doi.org/10.1038/ijo.2010.238

Queen, A. H., Barlow, D. H. eta Ehrenreich-May, J. (2014). The trajectories of adolescent anxiety and depressive symptoms over the course of a transdiagnostic treatment. *Journal of Anxiety Disorders*, *28*(6), 511–521. https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2014.05.007

Quek, Y., Tam, W. W., Zhang, M. W. eta Ho, R. C. (2017). Exploring the association between childhood and adolescent obesity and depression: a meta-analysis. *Obesity Reviews*, *18*(7), 742–754. https://doi.org/10.1111/obr.12535

Seager, I., Rowley, A. M. eta Ehrenreich-May, J. (2014). Targeting Common Factors Across Anxiety and Depression Using the Unified Protocol for the Treatment of Emotional Disorders in Adolescents. *Journal of Rational - Emotive and Cognitive - Behavior Therapy*, *32*(1), 67–83. https://doi.org/10.1007/s10942-014-0185-4

Serra-Majem, L., Ribas, L., Ngo, J., Ortega, R. M., García, A., Pérez-Rodrigo, C. eta Aranceta, J. (2004). Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public Health Nutrition*, *7*(7), 931–935. https://doi.org/10.1079/phn2004556

Sherman, J. A. eta Ehrenreich-May, J. (2020). Changes in Risk Factors During the Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders in Adolescents. *Behavior Therapy*, *51*(6), 869–881. https://doi.org/10.1016/j.beth.2019.12.002

Strait, R. B., Slattery, M. J., Carrel, A. L., Eickhoff, J. eta Allen, D. B. (2018). Salivary Cortisol Does Not Correlate with Metabolic Syndrome Markers or Subjective Stress in Overweight Children. *Physiology & Behavior*, *3*(2), 8. https://doi.org/10.21767/2572-5394.100048

Tanas, R., Bernasconi, S., Marsella, M. eta Corsello, G. (2020). What's the name? Weight stigma and the battle against obesity. *Italian Journal of Pediatrics*, *46*(1), 8–10. https://doi.org/10.1186/s13052-020-00821-8

Thamotharan, S., Lange, K., Zale, E., Huffhines, L. eta Fields, S. (2013). The role of impulsivity in pediatric obesity and weight status: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, *33*(2), 253–262. https://doi.org/10.1016/j.cpr.2012.12.001

Tonarely, N. A., Sherman, J. A., Grossman, R. A., Shaw, A. M. eta Ehrenreich-May, J. (2020). Neuroticism as an underlying construct in youth emotional disorders. *Bulletin of the Menninger Clinic*, *84*(3), 214–236. https://doi.org/10.1521/bumc.2020.84.3.214

Tronieri, J., Wadden, T., Leonard, S. eta Berkowitz, R. I. (2019). A pilot study of acceptance-based behavioural weight loss for adolescents with obesity. *Behavioral and Cognitive Psychotherapy*, *47*(6), 686–696. https://doi.org/10.1017/S1352465819000262

van Geel, M., Vedder, P. eta Tanilon, J. (2014). Are overweight and obese youghts more often bullied by their peers? A meta analysis on the relation between weight status and bullying. *International Journal of Obesity*, *38*(10), 1263–1267. https://doi.org/10.1038/ijo.2014.117

Weinreich, T., Filz, H. P., Gresser, U. eta Richartz, B. M. (2017). Effectiveness of a four-week diet regimen, exercise and psychological intervention for weight loss. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, *11*(3), LC20–LC24. https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/24112.9553

Wilfey, D., Best, J., Cahill Holland, J. eta Van Buren, D. . (2019). *Childhood obesity*. Hogrefe Publishing.

Wu, L., Yao, R., Zhang, Y., Wang, Y., Li, T., Chen, M., Liu, W., Han, H., Bi, L. eta Fu, L. (2019). The association between digit ratio (2D:4D) and overweight or obesity among Chinese children and adolescents: A cross-sectional study. *Early Human Development*, *136*, 14–20. https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2019.07.005

Kognitiboki hauskorrak diren pertsonengan narriadura kognitiboa eta dementzia prebenitzeko esku-hartze kognitibo eta sozio-emozional baten proposamena: GOIZ ZAINDUtik CITA GO-ONera

Naia Ros[1], Nekane Balluerka[1], Mirian Ecay-Torres[2], Arantxa Gorostiaga[1], Mikel Tainta[2], Goretti Soroa[1], Aitor Aritzeta[1], Fátima Garcia-Pena[1]
Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU)(1),
CITA-Alzheimer Fundazioa(2)
naia.ros@ehu.eus

Laburpena

Dementzia faktore anitzen arteko elkarrekintzaren emaitza da, eta horietako faktore batzuk aldatu eta esku har daitezkela kontsideratuz, dementzia kasuen herena prebenitu liteke. FINGER ikerketak (Ngandu et al., 2015), narriadura kognitiboa prebenitzeko, arrisku-faktoreen eta bizi-ohitura osasungarrien inguruko domeinu anitzeko esku-hartze baten eraginkortasuna frogatu zuen. CITA-Alzheimer eta UPV/EHUko QUALIKER taldeak elkarlanean burututako ikerketa pilotuak, GOIZ ZAINDU ikerketak alegia, erakutsi du FINGER metodologia euskal ingurune soziokulturalean aplikatu daitekeela, ezaugarri hauetako eskala handiagoko ikerketa bat egitea justifikatuz: CITA GO-ON ikerketa. Aurkezten den lan hau ikerketa honen barruan kokatzen da.

Hitz gakoak: Narriadura kognitiboaren prebentzioa, dementziaren prebentzioa, esku-hartze kognitiboa, esku-hartze sozio-emozionala

Abstract

Dementia is the result of the interaction between multiple factors, some of which can be modifiable and susceptible to intervention. So, one third of cases of dementia could be prevented. The FINGER study (Ngandu et al., 2015) showed that multi-domain intervention on risk factors and healthy living habits was effective in preventing cognitive impairment. The pilot study carried out jointly by CITA-Alzheimer and the QUALIKER group of the UPV/EHU, the GOIZ ZAINDU study, has shown that the FINGER methodology can be applied to the Basque sociocultural environment, justifying that an investigation of these characteristics can be carried out on a larger scale: CITA GO-ON study. The work presented is part of this study.

Keywords: Cognitive impairment prevention, dementia prevention, cognitive intervention, socio-emotional intervention

1. Sarrera eta motibazioa

2019. urtearen hasieran, 90,5 milioi adineko biztanle (60-65 urtetik gorakoak, Munduko Osasun Erakundearen arabera) bizi ziren Europar Batasunean. Datozen hiru hamarkadetan, Europar Batasuneko adinekoen kopuruak goranzko bideari jarraituko dio, eta 2050ean 129,8 milioi biztanle izatera iritsiko dela estimatzen da.

Honela, nahiz eta orokorrean biztanleriaren bizi iraupena luzeagoa izan, askok hainbat osasun edo mugikortasun arazori aurre egin beharko diete urteak aurrera egin ahala. Espainia mailan esaterako, 40 urtetik gorakoen artean, 700.000 pertsona baino gehiagok alzheimer gaixotasuna pairatzen dute, eta 2050 urterako kopuru hau bikoiztea espero da, dementziak prebenitzeko edo sendatzeko aurrerapen medikurik sustatzen ez badira.

Azkenaldian, medikuntza prebentiboa eta pertsonari egokitutako ikuspegia ezarrita dagoelarik, dementziaren erronkari aurre egiteko modua aldatu egin da. Dementziara daramaten gaixotasunek, alzheimerraren kasuan bezala, zenbait urtez iraun dezakeen sintomarik gabeko aurretiko fase bat igaro ohi dute. Honako fase honetan, aldaketa fisiopatologikoekin batera, hainbat arrisku-faktore detekta daitezke dagoeneko. Nahiko ebidentzia zientifikoa existitzen da aurretiko fase honetan, prebentziorako leiho terapeutiko bat aurkitu daitekeela baieztatzeko.

Azken finean, dementziari aurre egitea osasun publikoaren lehentasunetako bat da eta gizarteak saihestu ezin duen erronka. Komunitate zientifikotik, gure ardura da jakitea dementzia prebenitzeko

prebentzio-estrategia eraginkor bat zertan datzan, dagozkien politika soziosanitarioak proposatu ahal izateko.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Ezaguna da dementzia faktore genetiko, ingurumeneko, mediku, sozial eta pertsonal anitzen elkarreraginaren emaitza dela (Alzheimer's Association, 2020). Aldagarriak diren eta esku hartu daitezkeen hainbat arrisku-faktore identifikatu dira; hala nola, faktore kardiobaskularrak, sedentarismoa, jarduera kognitibo eskasa edo depresioa eta egoera sozial kaltegarriak.

Faktore horiengan eragiteko helburuarekin, FINGER ikerketan (Finnish Geriatric Intervention Study to Prevent Cognitive Impairment and Disability) jarduera kognitiboaren, dietaren, jarduera fisikoaren eta arrisku baskularreko faktoreen monitorizazioaren inguruko domeinu anitzeko esku-hartze bat egin zen dementzia jasateko arrisku handia zuten pertsonengan. Bertan, bi urteren buruan, esku-hartze taldearen errendimendu kognitiboaren emaitzak orokorrean, eta funtzio exekutiboen eta prozesatze-abiaduraren emaitzak bereziki, kontrol talderenak baino hobeak izan zirela hauteman zen. Emaitza horiek erakutsi zuten arrisku-faktoreen aldaketak kognizioan izan dezaketen eraginkortasuna. Horregatik, arlo honetan ikerketak aurrera egin dezan, ikerketa hori errepikatzea beharrezkoa da (Ngandu et al., 2015). Ikerketa hori errepikatzeko beharrak, World Wide FINGERS (WWF) plataformaren sorrera bultzatu du (Kivipelto et al., 2020).

FINGER ikerketan, programa kognitiboa taldekakoa eta banakakoa izan zen (Kivipelto et al., 2013). Talde-saioen gaiak zahartzearekin lotutako aldaketak, memoriak duen eginkizuna eta eguneroko bizitzako jardueretan arrazoitzeko estrategiek duten garrantzia izan ziren. Zeharka, alderdi soziala landu zen, baina ez esku-hartzearen funtsezko alderdi gisa. Banakako lana, etxean (edo ikasketa-leku batean) egindako ordenagailu bidezko entrenamendua izan zen. Sei hilabeteko bi aldi desberdindu ziren, aldi bakoitzak 72 saiok osatzen zutelarik. Saio hauek 10-15 minutukoak izatea, eta astean hirutan jardutea gomendatzen zen.

Ebidentziek erakusten dute ikasketa-maila altuak eta jarduera intelektualak narriadura kognitiboaren arriskua nabarmen murrizten dutela (Baumagart et al., 2015). Bizitzan zehar jarduera sozial eta kognitiboki estimulatzaileetan inplikatzeak, garunaren osasunari ere lagun diezaioke eta, beraz, Alzheimerraren eta beste dementzia batzuen arriskua murrizten lagun dezake (Di Marco et al., 2014). Bakarrik bizi diren pertsonek dementzia-arrisku handiagoa dute lagunduta bizi direnek baino (Chen et al., 2011). Horiek horrela, aurreikus daiteke jarduera kognitiboaren maila handitzea eta gaitasun sozio-emozionalak hobetzea lortzen duen esku-hartzeak, dementzia-arriskua murriztu dezakeela.

Osasun fisikoko faktoreek narriadura kognitiboan duten eragina identifikagarria bada ere, ez da gauza bera gertatzen funtzionamendu emozionalaren eta sozialaren aldaketekin (Navarro et al., 2013). Vasilikik eta Louisek (2008) erakutsi zuten, helduaroan ez bezala, zahartzaroan kognizioa eta emozioa integratzeko trebetasunak behera egiten duela. Hala, adineko pertsonen heziketa emozional egokia arazo psikologiko, kognitibo eta medikoen aurrean babes-faktore bezala ezartzen da (Márquez-González et al., 2004). Izan ere, zahartzaroan ongizate emozional subjektiboa aurresateko gaitasun handiena duen trebetasun emozionaletako bat Adimen Emozionala da (Rey et al., 2019). Estimulazio psikosoziala faktore babeslea da dementziaren aurrean (Fratiglioni et al., 2020), eta ongizate emozional subjektiboa jarduera kognitiboaren faktore sustatzailea da (Woods et al., 2012; Zaslavsky et al., 2013). Aitzitik, antsietate-depresioaren sintomatologiak dementziaren dimentsio azeleratzaile gisa jokatzen du, eta are gehiago bakarrik bizi diren edo sentitzen diren pertsonengan (Goveas et al., 2016).

Honako aurrekariak kontuan hartuta, lan honen helburu nagusia da CITA-Alzheimerrek eta UPV/EHUko QUALIKER ikerketa taldeak elkarlanean diseinatutako eta ezarritako GOIZ-ZAINDU esku-hartze pilotuan alderdi kognitiboan eta sozio-emozionalean lortutako emaitza nagusienak aurkeztea eta hortik abiatuta, estimulazio kognitiboko eta gaitasun sozio-emozionaletan oinarritutako esku-hartze programa bat proposatzea. Esku-hartze proposamen hau ikerketa zabalago baten barruan sartzen da. Aipatutako ikerketa honetan, CITA GO-ON ikerketan alegia, Euskadin dementzia arrisku handiago eta hauskortasun kognitiboa duten pertsonen narriadura kognitiboa eta dementzia prebenitzeko arrisku-faktoreei eta bizi-estiloei lotutako domeinu anitzeko esku-hartze bat ezarri eta bere eraginkortasuna ebaluatu nahi da.

3. Ikerketaren muina

CITA-Alzheimer Fundazioak, 2018 eta 2020 urteen artean, GOIZ-ZAINDU esku-hartze pilotua abian jarri zuen (Osakidetzarekin, Beasaingo Udalarekin eta Eusko Jaurlaritzako Osasun Sailaren laguntzarekin gauzatutakoa, eta WWF plataformaren parte dena). Esku-hartze pilotu honen helburu nagusia, FINGER metodologia egokitu eta gure testuinguru sozial eta kulturalean arrisku baskularreko faktoreak, ohitura dietetikoak, jarduera fisikoa eta jarduera kognitiboa aldatzeari buruzko domeinu anitzeko esku-hartzearen bideragarritasuna aztertzea zen. Honetaz gain, esku-hartze kognitiboaren eraginkortasuna aztertzeko esplorazio-helburua planteatu zen ere.

Aldez aurretik esan bezala, FINGER ikerketak alderdi soziala zeharka landu zuen, baina ez esku-hartzearen funtsezko alderdi gisa. Gabezia horren aurrean, UPV/EHUko QUALIKER ikerketa-taldeak, CITA-Alzheimerrekin lankidetzan, esku-hartze sozio-emozionala diseinatu zuen. Esku-hartze hau GOIZ-ZAINDUren laginean pilotatu zuen, CITA GO-ON ikerketan ezarri eta ebaluatu ahal izateko. Esku-hartze sozio-emozional pilotuaren helburuak ondorengoak izan ziren:

1) Helburuko populazioak honelako ikerketa batean parte hartzeko duen prestasuna aztertu.
2) Esku-hartzea aurrez aurrekoa eta online garatzeko aukera aztertu.
3) Esku-hartzearen edukiak helburuko populazioaren ezaugarrietara egokitu.
4) Emaitzen ebaluazioa egiteko tresnak aukeratu.
5) Atxikimendu tasak ebaluatu eta esku-hartzearen eraginkortasunaren lehen emaitzak aztertu.

3.1. Ikerketaren diseinua

GOIZ-ZAINDU kontrolatutako eta aleatorizatutako ikerketa pilotua da, eta hauskortasun kognitiboko egoeran dauden eta dementzia-arrisku handia duten pertsonen narriadura kognitiboa eta dementzia prebenitzeko domeinu anitzeko esku-hartze ez-farmakologikoa da.

Fase pilotua bi momentu desberdinetan gauzatu zen: lehenik, alderdi kognitiboa (jarduera fisikoa, nutrizioa eta arrisku baskularren kontrolarekin batera) eta bigarrenik, alderdi sozio-emozionala.

3.2. Partaideak

Alderdi kognitiboko parte-hartzaileen inklusio-irizpideak hauek izan ziren: 60-85 urte bitartekoa izatea eta ikerketaren ebaluazio eta esku-hartzeko prozedura guztietan parte hartzeko prest egotea; dementzia-arriskuaren puntuazioa CAIDE ≥ 6 izatea (dementzia garatzeko arrisku handiagoa izatea); gutxienez bi proba kognitibo laburretako batean espero den baino errendimendu kognitibo txikiagoa erakustea (1)Fototest ≤ 35; 2)Memoria alterazio froga - T@M ≤40), edo Alzheimer Disease 8 (AD8) informatzailearen galdetegian puntuazioa ≥ 2 izatea. Dementzia zuten parte-hartzaileak ikerketatik kanpo geratu ziren. Lagina 125 parte-hartzailek osatu zuten. 64 pertsona esku-hartze taldera esleituak izan ziren eta 61 kontrol taldera. Esku-hartze taldearen (E-HT) batezbesteko adina 76,07 urtekoa zen, %59a emakumezkoak ziren eta eskolatze-urteen batezbestekoa 7, 72 urtekoa zen. Kontrol taldean (KT), adinaren batezbestekoa 75,22 urtekoa izan zen, %58a emakumezkoak ziren eta eskolatze-urteen batezbestekoa 8,48 urtekoa zen.

Alderdi sozio-emozionaleko parte-hartzaileen inklusio-irizpideak hauek ziren: 60-85 urte bitartekoa izatea eta ikerketaren ebaluazio eta esku-hartzeko prozedura guztietan parte hartzeko prest egotea; dementzia-arriskuaren puntuazioa CAIDE ≥ 6 izatea. Baztertze-irizpideak honako hauek izan ziren: ebaluazioa eta esku-hartzea egiteko ezintasuna zentzumen-mugaketagatik, adimen-atzerapenagatik edo analfabetismoagatik; Barthel eskalan puntuazio osoa < 90 izatea (eguneroko bizitzan jarduera zehatzak egiteko ezintasuna aurkeztea); eta aldez aurretik diagnostikatutako dementzia edo narriadura kognitibo moderatua izatea (MMSE < 20). Alderdi sozio emozionaleko lagina, alderdi kognitiboan parte hartu zuten 30 pertsonez osaturik egon zen. Parte hartu zuten 30 pertsonetatik, 18 esku-hartze taldera esleituak izan ziren eta 12 kontrol taldera. Esku-hartze taldearen batezbesteko adina 76,31 urtekoa zen; %61a emakumezkoak ziren; %11,1a bakarrik bizi ziren; eta norbaitekin bizi zirenetatik, %83,3a bikotearekin bizi ziren. Kontrol taldean, adinaren batezbestekoa 73,83 urtekoa izan zen; %75a emakumezkoak ziren; %33,3 bakarrik bizi ziren; eta norbaitekin bizi zirenetatik, %100 bikotearekin bizi ziren.

3.3. Prozedura

Oinarrizko ebaluazioa

Oinarrizko ebaluazioan, alde batetik, hainbat datu soziodemografiko jaso ziren, eta bestetik, intereseko aldagai kognitiboei eta sozio-emozionalei buruzko informazioa biltzeko hurrengo tresnak hautatu ziren. Tresna hauek berme psikometriko egokiak zituztela berretsi zen.

Alderdi kognitiboan hautatutako aldagaiak eta tresnak:

- Kognizio globala, memoria globala, funtzio exekutiboa eta prozesatze-abiadura: Neuropsychological Test Battery modified (Harrison et al., 2007; Ngandu et al., 2014).
- Sintoma kognitiboak: CITA-Alzheimerreko profesionalek sintoma kognitiboak neurtzeko ad-hoc eraikitako galdetegia.
- Eguneroko bizitzako jarduera-maila: aisialdiari eta jarduera produktiboei buruzko galdetegia (Fernandez-Ballesteros et al., 2006).
- Erreserba kognitiboa: erreserba kognitiboaren galdetegia (Rami et al., 2011).

Ebaluazio kognitiboa goizetan egiten zen, banaka, eta 90 minutu irauten zuen, gutxi gorabehera.

Alderdi sozio-emozionalean hautatutako aldagaiak eta tresnak:

- Adimen emozionala: Trait Meta-Mood Scale for Olders (TMMS-22 Old; gaztelaniazko bertsioa; Galdona et al., 2018).
- Erlaxatzeko gaitasuna: EMWAVE (McCraty et al., 2006).
- Bakardadearen pertzepzio subjektiboa: UCLA loneliness scale (gaztelaniazko bertsioa; Velarde-Mayol, et al., 2016).
- Antsietatea eta depresioa: Goldberg Anxiety and Depression Scale (EADG; gaztelaniazko bertsioa; Montón et al., 1993).
- Bizitzarekiko gogobetetasuna: Satisfaction with Life Scale (SWLS; gaztelaniazko bertsioa; Pons et al., 2002).
- Kontzientzia eta arreta osoa: Mindful Attention Awareness Scale (MAAS; gaztelaniazko bertsioa; Barajas eta Garra, 2014).

Ebaluazio sozio-emozionalean, galdesortak autoadministratuak ziren, erlaxatzeko gaitasuna neurtzen duen proba izan ezik (EMWAVE, McCraty et al., 2006). Balorazio hau ere goizez egin zen, eta 20 minutu irauten zuen, gutxi gorabehera.

Oinarrizko ebaluazioaren ondoren, parte-hartzaileak, aleatorizazio-prozesuaren bitartez, esku- hartze edo kontrol taldeetara esleituak izan ziren. Ausazko esleipenak 1:1eko proportzioa izan zuen, adinaren eta narriadura kognitiboaren presentziaren edo gabeziaren arabera.

GOIZ ZAINDU esku-hartze pilotua

GOIZ ZAINDU pilotuaren esku-hartze kognitiboari dagokionez, 12 saiok osatzen zuten. Urtebeteko iraupena izan zuen, saioak hilabetean behin zirelarik. Taldeen partaide kopurua 6-19 pertsona artekoa izan zen. Interbentzio kognitiboaren bitartez, hurrengo helburuak lortu nahi ziren: parte-hartzaileen errendimendu kognitiboa mantentzea eta hobetzea eta bizi-ohitura kognitibo-osasungarriak sustatzea, dementzia prebenitzen laguntzeko. Taldekako esku-hartzeaz gain, bakarka lantzeko entrenamendu kognitiboko koadernoak prestatu ziren. Taldeak sortu aurretik, partaide bakoitzari koadernoa egokitzen zitzaion, hezkuntza maila eta balorazio neuropsikologikoa kontuan hartuz, eta honen mailaren arabera, zegokion taldera esleitzen zen.

Esku-hartze sozio-emozionalak aldiz, 16 saiok osatzen zuten. Hiru hilabeteko iraupena izan zuen, saioak astean bitan ematen ziren eta 10 eta 8 partaideek osatutako bi talde sortu ziren. Lehen aipatutako 5 helburuen arteko azkenari dagokionez, hots, esku-hartzearen eraginkortasunari dagokionez, zera lortu nahi zen: zahartzaroko emozioen kontzientziarekin, komunikazioarekin eta erregulazioarekin lotutako trebetasun sozio-emozionalak sustatzea, eta arazo emozionalen garapena prebenitzea; hala nola, antsietatea, depresioa edota bakardadea.

Esku-hartze osteko ebaluazioak

Pilotuen bi esku-hartzeak amaitutakoan, hauen osteko ebaluazioak egin ziren eta oinarrizko ebaluazioan erabilitako tresnak berriro aplikatu ziren.

3.4. Emaitzak

Alderdi kognitiboari dagokionez, 93 partaidek ikerketa burutu zuten (%89a).

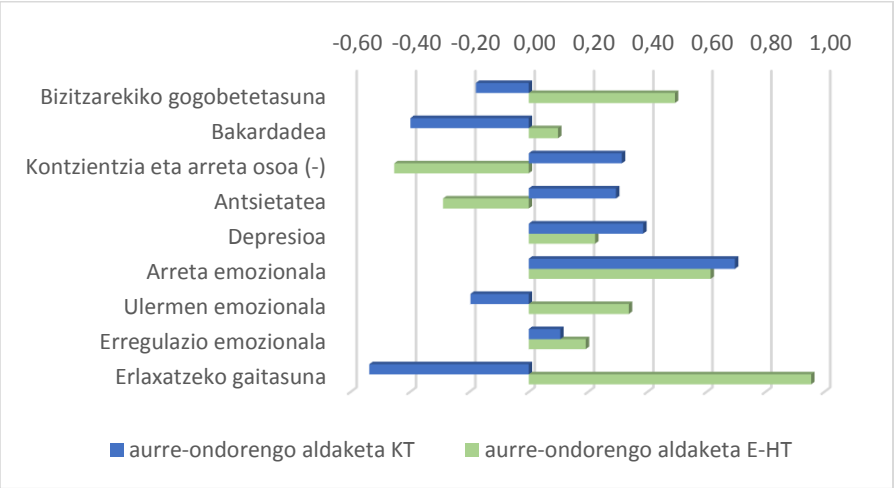
Analisi estatistikoak egin ondoren, 1. taulan, kontrol taldeak esku-hartze taldearekin alderatuta, narriadura kognitiboa garatzeko duen probabilitatearen emaitzak erakusten dira. Kontrol-taldeak, esku-hartze taldearekin alderatuta, funtzio exekutiboan eta prozesatze-abiaduran errendimendua murrizteko probabilitate bikoitza zuen (OR = 2.250, %95 KI 0.968 - 5.230 eta OR = 2.053, %95 KI 0.558 - 4.755, hurrenez hurren).

1. Taula. Narriadura kognitiboa garatzeko probabilitatea, bai kontrol taldean eta baita esperimentalean

	Odds ratio (KI:%95a)		P
	E-HT (n=46)	KT (n=46)	
Narriadura Kognitibo Orokorra			
NTB totala	1 (erreferentea)	1.000 (0.440-2.272)	1.000
Narriadura Kognitiboa domeinuka			
NTB memoria orokorra	1 (erreferentea)	1.000 (0.400-2.272)	1.000
NTB funtzio exekutiboa	1 (erreferentea)	2.250 (0.968-5.230)	.060
NTB prozesatze-abiadura	1 (erreferentea)	2.053 (0.558-4.755)	.093

Alderdi sozio-emozionalean, lehenik, helburuko populazioak honelako ikerketa batean parte hartzeko duen prestasuna aztertu zenean, ikerketan hasi ziren 30 partaideetatik, 16k (%53a) burutu zutela ikusi zen. Bigarrenik, esku-hartzea aurrez aurrekoa eta online garatzeko aukera aztertzean, parte-hartzaileen %92k adierazi zuten zailtasun teknologikoak zituztela online saioetan parte hartzeko. Hirugarrenik, esku-hartzearen edukien egokitzapena egin zen helburuko populazioaren ezaugarriak kontuan hartuta. Halaber, eraginkortasun-emaitzak ebaluatzeko hautatutako tresnen egokitasuna zehaztu zen. Aukeratutako tresnen barne-trinkotasun indizeak 0.80-0.94 artean zeuden, EADGaren depresio-dimentsioa izan ezik (0.60). Azkenik, 2. irudian eraginkortasun-analisiak aurkezten dira, laginaren tamaina txikia zela eta, efektuaren tamainan oinarrituta interpretatu zirenak. Honela, r indizean oinarrituz, antsietateak (r = 0.29), ulermen emozionalak (r = 0.34) eta kontzientzia eta arreta osoak (r = 0.45) efektuaren tamaina ertaina aurkeztu zuten bitartean, bizitzarekiko gogobetetasunak (r = 0.49) eta erlaxatzeko gaitasunak (r = 0.96) efektuaren tamaina handia erakutsi zuten. Gainontzeko aldagaien efektuaren tamaina txikia izan zen.

2. Irudia: Interbentzioaren aurretik eta ondorengo aldaketa (r indizea)



4. Ondorioak

GOIZ-ZAINDU pilotuak, FINGER metodologia, Euskadiko testuinguru sozio-kulturalera moldatu eta bideratu daitekeela frogatu du. Halaber, alderdi kognitiboko eraginkortasun esplorazio emaitzek erakusten dute domeinu anitzeko esku-hartze taldean funtzio exekutiboa eta prozesatze-abiadura deklinatzeko probabilitate txikiagoa aurkezteko joera dagoela kontrol taldean baino.

Alderdi sozio-emozionalean, partaidetza tasari dagokionez, litekeena da pandemia garaiak honengan eragina izatea. Zailtasun teknologikoa aurkeztu zuten pertsonen portzentaje altua zela eta, esku-hartzea solik aurrez-aurrekoa izatea erabaki zen. Edukiei dagokionez, hauek partaideen beharretara moldatu ziren eta saioen ordena ere behar hauen arabera antolatu zen. Bestalde, ebaluaziorako aukeratutako tresna gehienak egokiak izan ziren. Azkenik, esku-hartze taldean, kontrol taldearekin konparatuz, bizitzarekiko gogobetetasuna, kontzientzia eta arreta osoa, ulermen emozionala eta erlaxatzeko gaitasuna areagotu egin ziren, eta antsietatea gehiago murriztu zen.

Lortutako emaitzek, eta erabiltzaileen eta profesionalen onarpen eta partaidetza maila handiak, Euskadin eskala handiagoko domeinu anitzeko esku-hartze bat egitea justifikatu zuten, esku-hartze sozio-emozionalaren elementu berritzailea gehituz: CITA GO-ON ikerketa.

CITA GO-ON

CITA GO-ON, Euskadin dementzia eta hauskortasun kognitiboa izateko arrisku handia duten pertsonen narriadura kognitiboa prebenitzeko arrisku-faktoreei eta bizimoduei buruzko domeinu-anitzeko esku-hartze bat ezarri eta bere eraginkortasuna ebaluatu nahi duen ikerketa da.

Hasieran esan bezala, aurkezten den lan honetan, GOIZ ZAINDU ikerketa pilotuaren emaitzak emateaz gain, CITA GO-ON ikerketaren barruan kokatzen den, esku-hartze kognitibo eta sozio-emozionalaren proposamena egin nahi da. Eskala handiko ikerketarako proposatzen diren esku-hartze kognitibo eta sozio-emozionalak bi urteko iraupena izango dute. Alderdi sozio-emozionalaren fase pilotuan bezala, oraingoan, bi esku-hartzeek 16 saio izango dituzte eta hilabetean behin, alderdi bakoitzeko saio bat egingo da. Bi esku-hartzeek taldekako interbentzio atal bat izango dute, eta bakarkako laneko beste atal bat. Fase pilotuan lortutako emaitzetan eta feedbackean oinarrituz, esku-hartzearen metodologia eta saioen ezaugarriak, orokorrean, antzeko mantenduko dira. Hala ere, taldeen kopurua 15 pertsonetan ezartzea erabaki da eta pilotuan bezala, landuko diren gaien jorratzea, partaideen ezaugarrietara moldatuko da ere.

Banakako esku-hartzeei dagokienez, alderdi kognitiboan, ExerCITA © programa ezarriko da, osasun kognitiboa zaintzeko. Programa honek, etxean modu autonomoan egiteko entrenamendu kognitiboko ariketak planteatzen ditu. Alderdi sozio-emozionalean ere, taldekako esku-hartzearen osagarri bezala, etxean egiteko ariketa bat planteatuko da. Saio batetik bestera konektatuta jarraitzeko, hurrengo saioarekin lotuta dagoen Podcasta entzutea eta ariketa egitea proposatuko da.

Bestalde, talde-giro ona bultzatzeko eta saioekiko atxikimendua sustatzeko, taldeko kideak, espazioa eta saioen egitura mantenduko dira, bai arlo kognitiboan bai sozio-emozionalean. Halaber, denbora-koherentzia ezarriko da arlo kognitiboan landu beharreko aldagaien artean (adibidez, arreta kognitiboa) eta aldagai sozio-emozionalen artean (adibidez, emozioen arreta).

Proposamen honen bidez hainbat premiari erantzun nahi zaie:

- Esku-hartze kognitiboko eta sozio-emozionaleko programa bat ezartzea eta ebaluatzea gure kultura-testuinguruan.
- Esku-hartzearen diseinuan, inplementazioan eta ebaluazioan hobekuntza eskatzen duten alderdiak identifikatzea, esku-hartze kognitiboan eta sozio-emozionalean oinarritutako etorkizuneko programen eraginkortasuna optimizatzeko.
- Eta, batez ere, dementzia garatzeko arrisku handia duten pertsona kognitiboki hauskorren narriadura kognitiboa eta psikologikoa prebenitzeko beharrari erantzun nahi zaio.

5. Etorkizuna

Dementziaren garapena erronka handietako bat da sistema soziosanitarioentzat, bere prebalentzia handia dela eta, mendekotasunaren sorreran inpaktu handia duelako eta kostu handia dakartzalako. Bizi-itxaropenaren gorakadak eta biztanleriaren zahartze progresiboak gaixoen kopurua nabarmen handituko dela iragartzen dute. Egoera horren aurrean, gizarteak diagnostiko goiztiarra garatzeko eta gizabanako bakoitzaren arriskua ezagutzeko, eta ebidentzian oinarritutako prebentzio-estrategiak abian jartzeko neurriak eskatzen ditu. Egungo ikerketek gaixotasunaren fase aurreklinikoan jardutea egokiena dela diote.

Ikerketa honen emaitzek, ebidentzian oinarrituta egongo direnak, zahartze "osasuntsua" sustatzeko politikak eta esku-hartzeak abian jartzeari buruzko balio handiko ezagutza eman dezakete.

6. Erreferentziak

Alzheimer's Association. (2020). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*, *16*, 391-460.

Baumgart, M., Snyder, H. M., Carrillo, M. C., Fazio, S., Kim, H. eta Johns, H. (2015). Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimer's Dement, 11*(6), 718–726.

Chen, R., Hu, Z., Wei, L., Ma, Y., Liu, Z. eta Copeland, J. R. (2011). Incident dementia in a defined older Chinese population. *PLoS One*, *6*(9), e24817.

Di Marco, L. Y., Marzo, A., Muñoz-Ruiz, M., Ikram, M. A., Kivipelto, M., Ruefenacht, D., Venneri, A., Soininen, H., Wanke, I., Ventikos, Y. A. eta Frangi, A. F. (2014). Modifiable lifestyle factors in dementia: a systematic review of longitudinal observational cohort studies. *Journal of Alzheimer's Disease*, *42*(1), 119-35.

Ecay, M., Tainta, M., de Arriba, M., Arrospide, A., Barandiaran, M., Otaegui, A., Iriondo, A., Garcia-Sebastián, M., Estanga, A., Aurtenetxe, S., Saldias, J., Clerigue, M., Gabilondo, A. eta Martínez-Lage, P. (2020). *The GOIZ ZAINDU pilot project. Cognitive results after a FINGER-like one year randomized controlled multidomain intervention*. Alzheimer's Association International Conference AAIC®-era aurkeztutako komunikazioa, Amsterdam, Holanda.

EUROSTAT. (2020). *Ageing Europe — looking at the lives of older people in the EU*. Europar Batasuneko Argitalpen Bulegoa, Luxenburgo.

Fratiglioni, L., Marseglia, A. eta Dekhtyar, S. (2020). Ageing without dementia: can stimulating psychosocial and lifestyle experiences make a difference? *The Lancet Neurology*, *19*(6), 533-543.

García-Pena, F., Gorostiaga, A., Soroa, G., Aritzeta, A., Balluerka, N., Ecay-Torres, M., Tainta, M. eta Etxeberria, I. (2021). *Estudio piloto aleatorizado para implementar una intervención socioemocional en un programa multidominio de prevención del deterioro cognitivo*. IX Alzheimerraren Biltzar Nazionalean aurkeztutako komunikazioa CEAFA, Vitoria-Gasteiz, Espainia.

Goveas, J. S., Rapp, S. R., Hogan, P. E., Driscoll, I., Tindle, H. A., Smith, J. C., Kesler, S. R., Zaslavsky, O., Rossom, R. C., Ockene, J. K., Yaffe, K., Manson, J. E., Resnick, S. M. eta Espeland, M. A. (2016). Predictors of Optimal Cognitive Aging in 80+ Women: The Women's Health Initiative Memory Study. *The Journal of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, *71*(S1), 62-71.

Izard, C. E. (2009). Emotion Theory and Research: Highlights, Unanswered Questions, and Emerging Issues. *Annual Review of Psychology*, *60*, 1-25.

Kivipelto, M., Solomon, A., Ahtiluoto, S., Ngandu, T., Lehtisalo, J., Antikainen, R., Bäckman, L., Hänninen, T., Jula, A., Laatikainen, T., Lindström, J., Mangialasche, F., Nissinen, A., Paajanen, T., Pajala, S., Peltonen, M., Rauramaa, R., Stigsdotter-Neely, A., Strandberg, T.,… Soininen, H. (2013). The Finnish Geriatric Intervention Study to Prevent Cognitive Impairment and Disability (FINGER): Study design and progress. *Alzheimer's Dem*ent, *9*, 657–665.

Kivipelto, M., Mangialasche, F. eta Ngandu, T. (2018). Lifestyle interventions to prevent cognitive impairment, dementia and Alzheimer disease. *Nature Reviews: Neurology*, *14*, 653-666.

Kivipelto, M., Mangialasche, F., Snyder, H. M., Allegri, R., Andrieu, S., Arai, H., Baker, L., Belleville, S., Brodaty, H., Brucki, S. M., Calandri, I., Caramelli, P., Chen, C., Chertkow, H., Chew, E., Choi, S. H., Chowdhary, N., Crivelli, L., De La Torre, R.,… Carrillo, M. C. (2020). World-Wide FINGERS Network: A global approach to risk reduction and prevention of dementia. *Alzheimer's Dement*, *16*, 1078-1094.

Márquez-González, M., Izal, M., Montorio, I. eta Pérez-Rojo, G. (2004). Emoción en la vejez: una revisión de la influencia de los factores emocionales sobre la calidad de la vida de las personas mayores. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, *39*, 46-53.

Meléndez, J. C., Delhom, I. eta Satorres, E. (2019). The power of emotional intelligence on older adults' resilience. *Anxiety and Stress*, *25*(1), 14-19.

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. (2019). *Plan Integral de Alzheimer y Otras Demencias (2019-2023)*. Espainiako Gobernuaren Argitalpen Zentroa, Madril.

Navarro, A. B., Bueno-Martínez, B. eta Buz-Delgado, J. (2013). Bienestar emocional en la vejez avanzada: estudio comparativo por edad y género. *Psychology, Society, & Education*, *5*(1), 41-57.

Ngandu, T., Lehtisalo, J., Solomon, A., Levälahti, E., Ahtiluoto, S., Antikainen, R., Bäckman, L., Hänninen, T., Jula, A., Laatikainen, T., Lindström, J., Mangialasche, F., Paajanen, T., Pajala, S., Peltonen, M., Rauramaa, R., Stigsdotter-Neely, A., Strandberg, T., Tuomilehto, J.,… Kivipelto, M. (2015). A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomized controlled trial. *Lancet*, *385*, 2255-63.

Orgeta, V. eta Phillips, L. H. (2008). Effects of age and emotional intensity on the recognition of facial emotion. *Experimental Aging Research*, *34*(1), 63-79.

Rey, L., Extremera, N. eta Sánchez-Álvarez, N. (2019). Clarifying the Links between Perceived Emotional Intelligence and Well-Being in Older People: Pathways Through Perceived Social Support from Family and Friends. *Applied Research in Quality of Life*, *14*(1), 221-235.

Salovey, P., eta Mayer, J. D. (1990). Emotional intelligence. *Imagination, Cognition and Personality*, *9*, 185-211.

Woods, B., Aguirre, E., Spector, A. E. eta Orrell, M. (2012). Cognitive stimulation to improve cognitive functioning in people with dementia. *The Cochrane database systematic reviews*, *15*(2), CD005562.

Zaslavsky, O., Cochrane, B. B., Thompson, H. J., Woods, N. F., Herting, J. R. eta LaCroix, A. (2013). Frailty: a review of the first decade of research. *Biological research for nursing*, *15*(4), 422-32.

7. Eskerrak/Aipamenak

CITA GO-ON ikerketa diziplina anitzeko taldeak osatzen du. Elkarlanean aritzen diren 7 bazkideek esperientzia egiaztatua dute jorratzen diren esparru ezberdinetan. Bazkideak hurrengoak dira: CITA-Alzheimer Fundazioa, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Nafarroako Unibertsitate Publikoa (UPNA), Basque Culinary Center (BCCInn), Biodonostia Osasun Ikerketa Institutua, Achucarro Neurozientzia Euskal Zentroa eta Argi Ventures S.L.

Aurkezten den lan hau PLEC2021-008171, MICIN/AEI/10.13039/501100011033 dirulaguntzaren bidez partzialki finantzatzen da, baita NextGenerationEU/PRTR Europar Batasunaren finantzazioarekin eta Eusko Jaurlaritzako Osasun Sailak eta Hna Fundazioak (fundacionhna.es) lagunduta ere. Era berean, proiektu honek Etxezain II proiektuaren laguntza jasotzen du. Etxezain proiektua Gipuzkoako Foru Aldundiak finantzatzen du, Etorkizuna Eraikiz ekintza-planaren barruan.

Azkenik, eskerrak eman nahi dizkiet lan honetan inplikatuta dauden pertsona guztiei, bai esku-hartzearen zuzendaritzan, diseinuan edota inplementazio lanetan dabilenei eta bereziki, ikerketa hau posible egiten duten parte-hartzaile boluntario guztiei ere.

Gehiegizko pisuaren eta obesitatearen historia elikadura-jokabidearen nahasmendu murriztaileetan: berrikuspen sistematikoa

Oihana Aguirreurreta (1), Tamara E. Gomez (1), Eva Pereda-Pereda[2,3]

[1]UPV/EHU, Psikologia Fakultatea, [2]Gasteizko Erizaintzako Unibertsitate-Eskola, Osakidetza, [3]Biodonostia Osasun Ikerketa Institutua; Osasun Mentala eta Arreta Psikiatrikoa, Donostia
eva.pereda@ehu.eus

Laburpena

Ezer gutxi dakigu obesitatearen edo gehiegizko pisuaren eta elikadura-jokabidearen nahasmendu murriztaileen arteko loturari buruz. Kasu horien prebalentzia, sintomatologia, garapena eta nahasmenduaren ezaugarri klinikoak aztertzeko PRISMA prozeduran oinarrituta 18 artikulu berrikusi ziren. Emaitzen arabera, elikadura-jokabidearen nahasmendu murriztailea duten pertsonen artean, gainpisua edo obesitate historia ohikoagoa da gizonengan emakumeengan baino. Horrez gain, gainpisua eta obesitate historia gehiago agertzen da anorexia nerbioso atipikoa duten pertsonengan anorexia nerbiosoa dutenengan baino. Anorexia nerbioso atipikoa duten pertsonak pisu handiagoarekin identifikatzen dira, baina horien sintomatologia, amenorrea eta ondorioak ez dira inoiz gainpisua edo obesitatea izan ez duten kasuenak baino larritasun gutxiagokoak. Emaitzek elikadura-jokabidearen nahasmenduen identifikazioan pisu-historia kontuan hartzearen garrantzia azpimarratzen dute.

Hitz gakoak: elikadura-nahasmenduak, Anorexia Nerbiosoa, Anorexia Nerbioso Atipikoa, gainpisua, obesitatea.

Abstract

Little is known about the relationship between overweight or obesity and restrictive eating disorders. This systematic review aimed to analyse their prevalence, symptomatology, development and clinical characteristics of these cases. Based on the PRISMA guidelines, we reviewed 18 articles. According to the results, among people with a restrictive eating disorder, a history of overweight or obesity is more common in men than women. In addition, a history of overweight or obesity is more common in people with atypical anorexia nervosa than in people with anorexia nervosa. People with atypical anorexia nervosa are identified with a higher weight, but their symptomatology, amenorrhoea and sequelae are no less severe than in those who have never been overweight or obese. The results underline the importance of considering weight history in identifying eating disorders.

Keywords: eating disorders, Anorexia nervosa, Atypical Anorexia Nervosa, overweight, obesity.

1. Sarrera eta motibazioa

Anorexia Nerbiosoa (AN) nahasmendu mental larria da, eta honen ezaugarriak gizentzeko gehiegizko beldurra, gorputz-irudiaren alterazioa eta muturreko argaltasuna lortzeko jokabide patologikoen erabilera dira, batik bat dieta murriztaile zorrotza mantentzea eta konpentsaziorako gonbitoak ala gehiegizko ariketa fisikoa egitea. Gaur egun, DSM-5-ean Osasunaren Mundu Erakundeak (OME) helduen pisu baxua kategoriarako markatutako 18,5 kg/m^2 baino gutxiagoko gorputz-masaren indizea (GMI) balioa ezartzen du ANrako diagnostiko-irizpide gisa. (American Psychiatric Association, APA, 2013; Osasunaren Mundu Erakundea, 2021)

Bestalde, ANren gainerako irizpideak betetzen dituzten baina GMI normalaren mailan edo hortik gora mantentzen diren pertsonak Anorexia Nerbioso Atipikoaren (ANA) diagnostikoaren barne sailkatzen dira (APA, 2013). Komunitatean ANAren prebalentzia ANren antzekoa edo handiagoa da, eta ANAk erikortasun-tasa altuak eta konplikazio mediko larriak baditu ere (Moskowitz eta Weiselberg, 2017), ANrekin alderatuz, gutxiago dira tratamendua jasotzen duten ANA kasuak (Harrop et al., 2021).

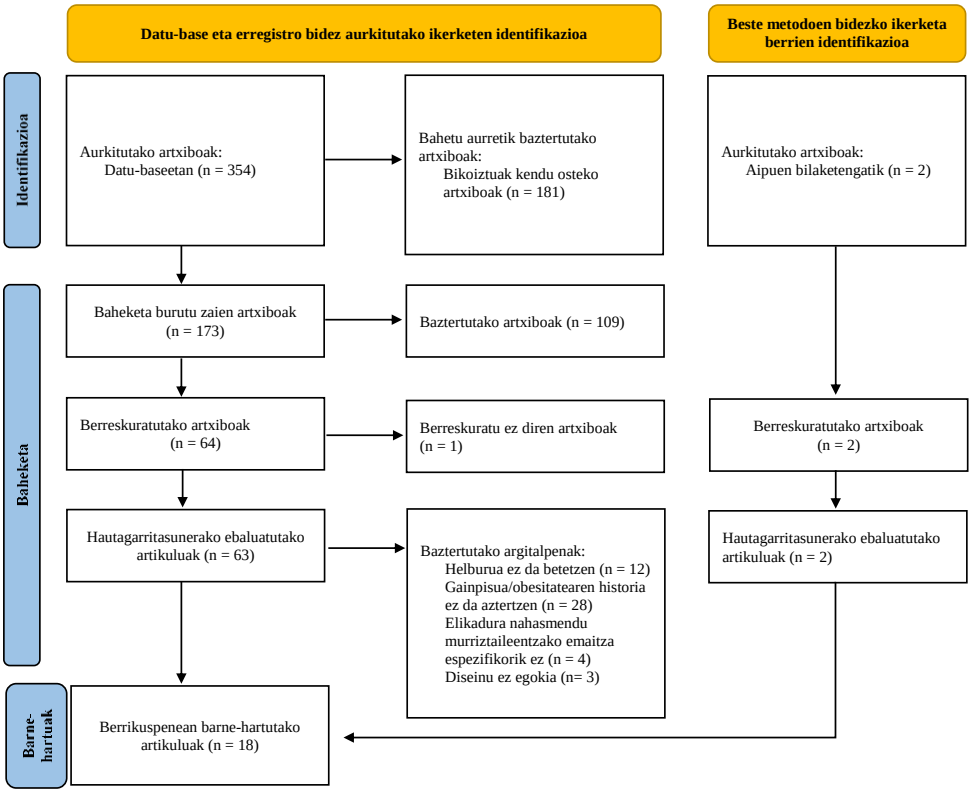
2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Gainpisua edo obesitatearen historia (GOH) duten pazienteek elikadura-jokabidearen nahasmendu (EJN) baterako tratamenduan dauden kasuen zati handi bat osatzen dute (Sim et al., 2013). Hala ere, EJNak emakume zuri eta argalen nahasmendu esklusibotzat hartzen dira eta estereotipo horrek profesional klinikoengan eragin dezake. Horregatik, pisu-galera handia izan arren, litekeena da GMI altua duten EJN kasuak ez identifikatzea eta tratamendu egokia jasotzen ez egotea sintomatologia larria aurkeztu arren (Burnette et al., 2018), bereziki EJN murriztaileen kasuan. Hortaz, GOH eta EJN murriztailea dituzten kasuen prebalentziari eta ezaugarri bereizgarriei buruzko ezagutza baliagarria izan liteke EJNen identifikazioa, prebentzioa eta tratamendua hobetzeko (Anderson et al., 2017). Beraz, lan honetan GOH eta AN ala ANA duten pertsonen prebalentzia, sintomatologia, garapena eta nahasmenduaren ezaugarri klinikoak aztertzea nahi da.

3. Metodologia

Berrikuspen sistematiko honek PRISMAren ildoak jarraitu zituen (Page et al., 2021). Bilaketak *PubMed*, *Web Of Science*, *Scopus* eta *PsycINFO* datu-baseetan gauzatu ziren 2022ko uztailean. Era berean, artikulu batzuk eskuz aukeratu ziren aipuen bilaketak eginez. ANA termino nahiko berria denez, hau aipatzeko gako-hitzak Harrop et al.-ek (2021) erabilitako prozeduran oinarritu zen: "*historical weight*", "*historical obesity*", "*historical overweight*", "*weight history*", "*obesity history*", "*overweight history*", "*premorbid weight*", "*premorbid obesity*", "*premorbid overweight*", "*pediatric overweight*", "*weight development*", "*historical BMI*", "*premorbid BMI*", "*Pediatric obesity*", *BMI History*", "*B.M.I history*", "*anorexia nervosa*", "*partial anorexia*", "*partial syndrome*" and "*anorexia*", "*subthreshold*" and "*anorex**", "*anorexia spectrum*", "*DSM-5*" and "*anorexia*", "*prodrom**" and "*anorex**", "*higher-weight*" and "*anorex**", "*sub-clinical*" and "*anorex**", "*atypical*" and "*anorexia*", "*higher-weight*" and "*restrictive eating disorder**", "*subclinical*" and "*anorex**", "*sub-threshold*" and "*anorex**", "*subsyndromal anorex**", "*higherweight anorex**", "*EDNOS-wt*", "*weight suppression*" and "*anorexia*", "*weight suppression*", "*restrictive eating disorder*", *EDNOS*.

Hurrengo fluxu-diagraman hautaketa prozesua ikus daiteke:



Bilaketak 354 artikulu bildu zituen, eta bikoiztuak ezabatu ondoren, 173 artikulu aztertu ziren. Baheketan 109 artikulu ezabatu ziren. Zehazki, berrikuspenarekin bat ez zetozenak eta EJN murriztailea ala GOH duten subjektuak barne hartzen ez zituztenak. Horrela, 64 artikulu ebaluatu ziren, eskuz bilatutako bi artikulurekin batera. Kanpo utzi ziren (1) EJN talde bakoitzerako emaitzak zehaztu ez zituzten artikuluak, (2) GOH aldagaia aztertzen ez zutenak eta partaideen artean biztanleria orokorrarekiko GMI altua izateko atalaserik markatzen ez zutenak, eta (3) azterlan kualitatiboak, liburuak, editorialak, iritzi-artikuluak, berrikuspen sistematikoak eta meta-analisiak. Azkenik, 18 artikulu jo ziren egokitzat.

4. Emaitzak

4.1 Parte-hartzaileen ezaugarriak

Lanen lagin-tamainak honakoak ziren: zortzik 200 parte-hartzaile baino gutxiago zituzten (Crisp et al., 1980; Crisp eta Stonehill, 1971; Lebow et al., 2015; Matthews et al., 2021; Meierer et al., 2019; Ming et al., 2014; Steinhausen eta Glanville, 1983; Strober et al., 1985), zazpik 200 eta 600 artean (Cena et al., 2017; Kennedy et al., 2017; Matthews et al., 2022; Nagata et al., 2019; Rastogi et al., 2020; Sawyer et al., 2016; Swenne, 2016) eta hiruk 600 parte-hartzaile baino gehiago (Bueno et al., 2014; Gueguen et al., 2012; Welch et al., 2015). Laginen batezbesteko adina antzekoa zen, 15-30 urte ingurukoa. Hein handi batean lagina emakumeek osatzen zuten. Lan batek lagin maskulinoa soilik erabili zuen (Ming et al., 2014), eta, gutxienez seik soilik lagin femeninoa (Bueno et al., 2014; Crisp et al., 1980; Rastogi et al., 2020; Steinhausen eta Glanville, 1983; Strober et al., 1985; Swenne, 2016).

Azterlan guztiek EJN zuten parte-hartzaileez osatutako lagin klinikoa erabili zuten. EJN murriztaileetarako (AN, ANA, elikagaiak ez hartzeagatiko/irenstegatiko nahasmendua eta mota murriztaileko EJN) berariazko emaitzak soilik erabili ziren berrikuspen honen emaitzetarako, Swenne-k (2016) eta Rastogi et al.-ek (2020) lortutako emaitzak izan ezik, zeinetan talde osoaren emaitzak hartu ziren kontuan, parte-hartzaileen % 3,3k eta % 8,8k baino ez baitzuten EJN murriztailerik. Jatorriari dagokionez, % 44 europarra zen, % 44 amerikarra, % 6 asiarra eta % 6 australiarra.

4.2. GOHren prebalentzia

EJN murriztailea dutenengan GOHren prebalentziaren inguruko datuak anitzak ziren, % 1,9 (Bueno et al., 2014) eta % 71 (Sawyer et al., 2016) artekoak. Gehiengoak gutxienez % 20ko prebalentzia aurkitu zuen (Crisp et al., 1980; Crisp eta Stonehill, 1971; Kennedy et al., 2017; Lebow et al., 2015; Matthews et al., 2021, 2022; Meierer et al., 2019; Nagata et al., 2019; Rastogi et al., 2020; Sawyer et al., 2016; Steinhausen eta Glanville, 1983).

Prebalentziak diagnostikoaren arabera aldatzen ziren: AN kasuetan GOHren prebalentzia % 30etik hurbil egon zen hiru ikerketatan (Crisp et al., 1980; Kennedy et al., 2017; Meierer et al., 2019); bitan % 50etik gorakoa zen (Crisp eta Stonehill, 1971; Ming et al., 2014); lau lanetan % 20-25 ingurukoa (Matthews et al., 2021, 2022; Rastogi et al., 2020; Steinhausen eta Glanville, 1983); batean % 12koa (Sawyer et al., 2016) eta soilik obesitate historia kontuan hartzen zuen ikerketa batean % 1,9koa (Bueno et al., 2014). Aldiz, ANA zuten pertsonengan prebalentzia altuagoa zen, % 53-71 artekoa (Kennedy et al., 2017; Matthews et al., 2021, 2022; Rastogi et al., 2020; Sawyer et al., 2016).

Sexua aztertu zuten lan guztiek GOHren prebalentzia altuagoa aurkitu zuten gizonengan: 39 % vs 13 % (Gueguen et al., 2012); 30,2 % vs 17,9 % (Kennedy et al., 2017); 68,75 % vs 35,6 % (Matthews et al., 2021); 55,9 % vs. 25,6 % (Matthews et al., 2022); 44,4 % vs 18,4 % (Nagata et al., 2019) eta 20,1 % vs 9,6 % (Welch et al., 2015)(Welch, 2015).

Jatorria aztertu zuen ikerketak GOHren prebalentzia altuagoa aurkitu zuen jatorri ez kaukasoar zuten parte-hartzaileengan, jatorri kaukasoar zutenekin alderatuz: % 26,8 % 17,6aren aurrean (Kennedy et al., 2017).

4.3 . EJN murriztaileen eboluzioa eta garapena

Ez zen ezberdintasunik aurkitu EJNren hasierako adinean edo diagnostikoa egiteko uneko adinean GOH izatearen arabera (Lebow et al., 2015; Matthews et al., 2021, 2022; Meierer et al., 2019; Swenne, 2016).

Lan batzuek GOH zutenek diagnostikoa jaso arte nahasmenduaren iraupen handiagoa zutela ikusi zuten, zehazki 4,5 hilabete (Nagata et al., 2019), 9 hilabete (Lebow et al., 2015) eta 14 hilabete gehiago (Rastogi et al., 2020). Hala ere, beste ikerketa batzuetan nahasmenduaren iraupenean aurkitutako ezberdintasunak ez ziren estatistikoki esanguratsuak izan (Kennedy et al., 2017; Matthews et al., 2021, 2022; Meierer et al., 2019).

Diagnostikoaren unean parte-hartzaileek zuten GMIari dagokionez, GOH zutenek GMI handiagoa ala GMIaren medianaren portzentaje handiagoa zuten GOH ez zutenekin alderaturik: 19,4 kg/m^2 GMI vs 17,3 kg/m^2 GMI (Meierer et al., 2019); 20 kg/m^2 GMI vs 16,9 kg/m^2 GMI (Lebow et al., 2015); 20,6 kg/m^2 GMI vs 18,1 kg/m^2 GMI (Rastogi et al., 2020); GMIm % 99,8 vs GMIm % 85,2 (Kennedy et al., 2017); GMIm % 46,1 vs GMIm % 17,26 (Matthews et al., 2021); GMIm % 36,44 vs GMIm % 13,36 (Matthews et al., 2022); eta 17,9 kg/m^2 GMI vs 15,7 kg/m^2 GMI (Nagata et al., 2019). Hala ere, diagnostikoaren unean pisu altuagoa izan arren, jasandako pisu galera askoz handiagoa zen GOH zutenen artean, GOH ez zutenekin alderatuz: pisuaren % 26ko vs %16ko galera (Kennedy et al., 2017; Matthews et al., 2021); GMIan 5,4 kg/m^2 vs 3,6 kg/m^2-ko jaitsierak (Lebow et al., 2015), eta GMIan 7,1 kg/m^2 vs 3,3 kg/m^2-ko jaitsierak (Rastogi et al., 2020). Obesitate historia zutenen artean 14,3 kg-ko batezbesteko galera erregistratu zen, obesitate historia ez zutenen artean 4,5 eta 9,5 kg arteko galeren aurrean (Swenne, 2016). Azkenik, Meierer et al.-ek (2019) 2004. urtean GMI-an 6,8kg/m^2-ko jaitsiera ikusi zuten, 3,8 kg/m^2-ko jaitsierarekin alderatuz eta 6,6 kg/m^2-koa 3,6 kg/m^2-koarekin alderatuz 2014ean. Gainera, ikusi zuten GOH zutenengan pisu galera azkarragoa zela GOH ez zeukatenekin alderatuz: 2,6 kg hilean eta 1,6 kg hilean, hurrenez hurren.

4.4. Sintomatologiaren larritasuna eta erikortasun fisiko eta psikologikoak

Nahasmenduaren larritasunari erreparatuz, GOH EDE eskalan sintomen larritasun handiagoarekin, antsietate handiagoarekin (Matthews et al., 2021; Swenne, 2016) eta depresioaren eskalan puntuazio altuagoekin lotu zen (Matthews et al., 2021). Hala ere, beste ikerketa batek ez zuen ezberdintasun esanguratsurik aurkitu EDE eskalan (Lebow et al., 2015) Matthews et al.-ek (2022) ez zuten ezberdintasun esanguratsurik aurkitu erikortasun psikiatrikoei, medikazio psikotropikoaren erabilerari, osasun mentaleko tratamenduaren historiari edo EJN-en familia historiari dagokienez.

Neurri fisiologikoen artean, GOH zutenen parte-hartzaileengan GOH ez zutenengan baino bihotz-maiztasun txikiagoa (65 vs 70 taupada/min) eta odol-presio handiagoa ikusi ziren (Meierer et al., 2019; Swenne, 2016). Gainera, GOH zutenengan hezur-dentsitate mineralaren (DMO) eta hezur-eduki mineralaren (CMO) balio altuagoak (0,88 vs 0,83) eta masa iharraren indize altuagoa (1,1 vs 0,8) ikusi ziren, baina ez zen ezberdintasunik aurkitu gantz-masaren indizean (Nagata et al., 2019).

Beste ikerketek ere ez zituzten ezberdintasunak aurkitu sintoma, konplikazio fisiko eta nahasmenduaren larritasunean GOH zuten eta ez zuten taldeak alderatzean (Lebow et al., 2015; Swenne, 2016).

4.5. Hilekoa

GOH zuten eta ez zuten parte-hartzaileak alderatzen zituzten ikerketetan ez ziren ezberdintasunak aurkitu amenorrearen presentzian (Lebow et al., 2015; Nagata et al., 2019; Rastogi et al., 2020). Gainera, ikerketa batek amenorrearen iraupen handiagoa ikusi zuen GOH zuten pazienteengan GOH ez zutenekin alderatuz (11,1 vs 7,8 hilabete) (Meierer et al., 2019). Rastogi et al.-ek (2020) ere ez zuten ezberdintasunik aurkitu prebalentziari dagokionez, baina ikusi zuten GOH zutenek bere aurretiko pisuaren portzentaje baxuagoa berreskuratu zutela hilekoa itzuli zenean; izan ere, batez beste bi taldeek hilekoa berreskuratu zuten 20-21 kg/m^2-ko GMIarekin. Era berean, Crisp eta Stonehill-ek (1971) ikusi zuten kasu gehienetan amenorrea aurretiko pisuaren % 10eko ala gehiagoko galera izan ostean ematen zela, pisu baxuan egotea beharrezkoa izan gabe.

4.6. Tratamendu eta pronostikoa

Tratamendu motan ez ziren ezberdintasunak aurkitu GOHarekin lotuta (Matthews et al., 2021, 2022; Meierer et al., 2019), baina Kennedy et al.-ek (2017) aurkitu zuten GOH zutenek probabilitate gutxiago zituztela ospitaleratuak izateko pisu altuagoa izateagatik. Bestalde, GOH errekuperazioan zehar pisu gutxiago berreskuratzearekin (Strober et al., 1985) eta epe-luzerako prognosi okerragoarekin lotu zen (Steinhausen eta Glanville, 1983).

Epe-luzera, % 29tik gorako pisu galera sintomatologiaren puntuazio total okerragoekin, narriadura sozialarekin, loditzeko beldurrarekin, ukapen handiagoarekin, gose seinaleen asaldurarekin eta gurasoekiko jarrera negatiboagoarekin erlazionatu zen (Steinhausen eta Glanville, 1983).

1. taula. Aztertutako aldagaien inguruko emaitza adierazgarrien laburpena.

Aldagaiak	Aurkikuntza garrantzitsuak
GOH-ren prebalentzia	- EJN murriztaileetan orokorrean GOH-ren prebalentzia % 20koa zen gutxienez. - GOH-ren prebalentzia altuagoa izan zen ANA kasuetan AN kasuetan baino. - Prebalentzia altuagoa izan zen gizonengan. - Prebalentzia altuagoa izan zen lagin ez kaukasikoan.
Nahasmenduaren eboluzioa eta garapena	- GOH zutenen artean, diagnostikoa jaso zutenean, balio altuagoak izan zituzten nahasmenduaren iraupenean, GMI-an, jasandako pisu galeran.
Sintomatologiaren larritasuna	- Sintomatologia psikologikoa: kasu batzuetan ez zen emaitza esanguratsurik aurkitu; beste batzuetan, GOH zutenek sintomatologia larriagoa eta antsietate eta depresio handiagoa izan zuten. - Sintomatologia fisikoa: GOH zutenek balio altuagoak izan zituzten odolpresioan, hezur-dentsitate mineralean eta masa iharraren indizean, baina bihotz-taupada baxuagoak.
Hilekoa	- Amenorrea aurretiko pisuaren % 10eko ala gehiagoko galera izan ondoren ematen zen (pisu baxuan egon ez arren). - GOH zutenen kasuetan, amenorrearen iraupena luzeagoa izan zen eta honen berreskurapena nahasmendua bilakatu baino lehenagoko pisuarekin alderatuta baxuagoa zen.
Tratamendua eta pronostikoa	- GOH zutenek gutxiago izan ziren ospitaleratuak pisu altuagoa izateagatik. - GOH zutenek prognosi okerragoarekin, pisu berreskurapen baxuagoarekin eta epe-luzera EJN sintomatologia altuagoarekin lotu ziren.

5. Ondorioak

Lan honen helburua GOH eta EJN murriztaile bat dituzten kasuen prebalentzia, garapena, sintomatologia eta nahasmenduaren ezaugarri klinikoak aztertzea izan zen. Prebalentzia datu anitzak bildu arren, nabarmentzen da azterlan gehienetan gutxienez % 20koa izan zela. Prebalentzian ezberdintasunak parte-hartzaileen ezaugarriengatik izan litezke, ikerketa batzuetan lagina emakumezkoek edota AN diagnostikoa zutenek soilik osatzen baitzuten. Azpimarratzekoa da GOHren prebalentzia handiagoa aurkitu zela gizonengan; beraz, ezaugarri hau kontuan hartzea baliagarria izan liteke gizonengan EJNen identifikazioa hobetzeko. Diagnostikoaren arabera, GOHren prebalentziak handiagoak izan ziren ANA kasuen artean (% 53 eta % 71 artean), AN kasuetan baino (% 12 eta % 57 artean). Hau esperotako emaitza zen, GOH duten kasuek pisu galera handiagoa behar baitute ANrako pisu baxuaren irizpidea betetzeko.

GOH zuten pazienteek diagnostikoan pisu handiagoarekin aurkeztu arren, pisu-galera askoz handiagoa eta azkarragoa jasan zuten, eta identifikatuak izan arte nahasmenduaren iraupen handiagoa zuten. Gainera, sintomen larritasuna, kognizio patologikoak eta narriadura klinikoa ez dira GOH ez dutenenak baino txikiagoak, are gehiago, hainbat azterlanek sintomatologiaren larritasun handiagoa eta depresio eta antsietate handiagoa ikusi zuten GOH zuten pazienteengan. Datu hauen arabera, GMI ez da neurririk erabilgarriena ANren larritasun indize gisa. Aldiz, larritasuna hobeto uler liteke beste adierazleen bidez, hala nola EJNaren pentsamendu eta jokabideen intentsitatea, denbora-tarte batean galdutako pisuaren proportzioa edo kezka eta ondoeza mailak (Phillipou eta Beilharz, 2019). Gainera, diagnostikoa, tratamendua eta berreskurapena pisuan zentratzeak garrantzia ken diezaieke nahasmenduaren alderdi psikologiko garrantzitsuei eta pisu handiagoa duten pertsonak behar bezain "gaixo" ez daudelaren eta laguntza eskatzeko pisu gehiago galdu behar dutelaren ustea betikotu dezake (Phillipou eta Beilharz, 2019)

Amenorreari dagokionez, emaitzetan ez da ezberdintasunik aurkitu GOH izatearen arabera. Amenorrea pisuaren % 10eko galera edo handiagoa izan ondoren ohikoa zela ere ikusi zen (Crisp eta Stonehill, 1971), pisu baxuan egon behar gabe. Beraz, alterazio hormonalak edozein pisurekin ager daitezke, eta aldaketa horiek normalizatzeko ez da beharrezkoa aldez aurreko pisua guztiz berreskuratzea.

6. Etorkizunerako ildoak

Azterlan gutxik ikertu dute GOH ENJ murriztailea dutenengan, beraz, kasu hauen inguruko kontzientziazio eta ikerketa gehiagoren beharra azpimarratzen da. Lan honetan GOHren prebalentzia handienak ANAn aurkitu zirenez, baliteke DSM-5aren aurreko ikerketetan kasu ugari islatuta ez geratzea. Gainera, hautatutako ikerketa guztiak lagin kliniko batean oinarritzen ziren, eta litekeena da komunitatean horrelako kasuen prebalentzia handiagoa izatea (Harrop et al., 2021), hortaz, interesgarria litzateke lotura hau lagin ez-klinikoan ere aztertzea. Bestalde, datu hauek ez dira nahikoak EJN murriztailea garatzerakoan GOH izateak nola eragiten duen ikertzeko. Pisuaren estigma eta pisuarekin lotutako isekak ohikoak dira GOH duten gazteen artean (Puhl eta Lessard, 2020), eta elikadura-jokabide ez-osasuntsuekin lotuta daude (Vartanian eta Porter, 2016). Hortaz, etorkizuneko ikerketek GOH eta ingurunearen errefusaren arteko lotura ikertu beharko lukete, muturreko dieta eta EJNen faktore amiltzaile gisa.

Gainpisurako eta obesitaterako esku-hartzeei begira, kontuan hartu behar da pisuaren estigma eta dieta EJN bat garatzeko arrisku-faktoreak direla (Burton, 2020; Hunger et al., 2020), horregatik gomendatzen da pisuan gutxiago zentratzea, epe luzera mantendu daitezkeen jokabideak indartzea eta pisuaren estigma lantzea (Neumark-Sztainer, 2009).

Emaitzei erreparatuz, posible zen GOH zuten kasu asko lehenago identifikatu izana, haien prognosia hobetuz, baina malnutrizioaren eta pisu-galeraren konplikazioak, pisu txikiko pazienteengan alerta-seinaleak direnak, askotan gaizki diagnostikatzen dira pisu handiagoko pazienteengan (Sim et al., 2013). Hortaz, lan honen emaitzek pazienteen pisu-historia kontuan hartzearen garrantzia azpimarratzen dute, eta ez egungo GMI soilik, EJN murriztaileak edozein

pisurekin eman baitaitezke. Profesionalek EJN baten sintomatologia aztertu beharko lukete edozein seinaleren aurrean. Azkenik, pisu handiagoko kasuak ez dira larritasun gutxiagokotzat hartu behar, gainerakoen larritasun eta konplikazio berak izan baititzakete.

7.Erreferentziak

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.). https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596

Anderson, L. K., Murray, S. B. eta Kaye, W. (2017). *Clinical handbook of complex and atypical eating disorders.* Oxford University Press.

Bueno, B., Krug, I., Bulik, C. M., Jiménez-Murcia, S., Granero, R., Thornton, L., Penelo, E., Menchón, J. M., Sánchez, I., Tinahones, F. J. eta Fernández-Aranda, F. (2014). Late onset eating disorders in Spain: Clinical characteristics and therapeutic implications. *Journal of Clinical Psychology*, *70*(1), 1–17. https://doi.org/10.1002/JCLP.22006

Burnette, C. B., Simpson, C. C. eta Mazzeo, S. E. (2018). Relation of BMI and weight suppression to eating pathology in undergraduates. *Eating Behaviors, 30*, 16–21. https://doi.org/10.1016/J.EATBEH.2018.05.003

Burton, M. (2020). Understanding and supporting children and young people with eating disorders. *Practice Nursing*, *31*(10), 412–419.

Cena, H., Stanford, F. C., Ochner, L., Fonte, M. L., Biino, G., De Giuseppe, R., Taveras, E. eta Misra, M. (2017). Association of a history of childhood-onset obesity and dieting with eating disorders. *Eating Disorders*, *25*(3), 216–229. https://doi.org/10.1080/10640266.2017.1279905

Crisp, A. H., Hsu, L. K. G., Harding, B., eta Hartshorn, J. (1980). Clinical features of anorexia nervosa. A study of a consecutive series of 102 female patients. *Journal of Psychosomatic Research, 24*(3–4), 179–191. https://doi.org/10.1016/0022-3999(80)90040-9

Crisp, A. H., eta Stonehill, E. (1971). Relation between aspects of nutritional disturbance and menstrual activity in primary anorexia nervosa. *British Medical Journal, 3*(5767), 149–151. https://doi.org/10.1136/BMJ.3.5767.149

Gueguen, J., Godart, N., Chambry, J., Brun-Eberentz, A., Foulon, C., Divac, S. M., Guelfi, J. D., Rouillon, F., Falissard, B. eta Huas, C. (2012). Severe anorexia nervosa in men: Comparison with severe AN in women and analysis of mortality. *International Journal of Eating Disorders, 45*(4), 537–545. https://doi.org/10.1002/EAT.20987

Harrop, E. N., Mensinger, J. L., Moore, M. eta Lindhorst, T. (2021). Restrictive eating disorders in higher weight persons: A systematic review of atypical anorexia nervosa prevalence and consecutive admission literature. *International Journal of Eating Disorders, 54*(8), 1328–1357. https://doi.org/10.1002/eat.23519

Hunger, J. M., Dodd, D. R. eta Smith, A. R. (2020). Weight discrimination, anticipated weight stigma, and disordered eating. *Eating Behaviors, 37*, 101383. https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2020.101383

Kennedy, G. A., Forman, S. F., Woods, E. R., Hergenroeder, A. C., Mammel, K. A., Fisher, M. M., Ornstein, R. M., Callahan, S. T., Golden, N. H., Kapphahn, C. J., Garber, A. K., Rome, E. S. eta Richmond, T. K. (2017). History of overweight/obesity as predictor of care received at 1-year follow-up in adolescents with anorexia nervosa or atypical anorexia nervosa. *Journal of Adolescent Health, 60*(6), 674–679. https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2017.01.001

Lebow, J., Sim, L. A. eta Kransdorf, L. N. (2015). Prevalence of a history of overweight and obesity in adolescents with restrictive eating disorders. *Journal of Adolescent Health, 56*(1), 19–24. https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2014.06.005

Matthews, A., Gordon, K., Kramer, R., Lin, J. eta Ziv, A. (2022). Clinical characteristics of medically hospitalized youth with anorexia nervosa/atypical anorexia nervosa and premorbid overweight/obesity. *Eating Disorders*, 1–11. https://doi.org/10.1080/10640266.2022.2097361

Matthews, A., Kramer, R. A. eta Mitan, L. (2021). Eating disorder severity and psychological morbidity in adolescents with anorexia nervosa or atypical anorexia nervosa and premorbid overweight/obesity. *Eating and Weight Disorders, 27*(1), 233–242. https://doi.org/10.1007/s40519-021-01168-7

Meierer, K., Hudon, A., Sznajder, M., Leduc, M.-F., Taddeo, D., Jamoulle, O., Frappier, J.-Y., eta Stheneur, C. (2019). Anorexia nervosa in adolescents: evolution of weight history and impact of excess premorbid weight. *European Journal of Pediatrics, 178*(2), 213–219. https://doi.org/10.1007/s00431-018-3275-y

Ming, T. S., Lin Miao Shan, P., Kuek Shu Cen, A., Ee Lian, L. eta Boon Swee Kim, E. (2014). Men do get it: eating disorders in males from an Asian perspective. *Journal of Psychiatry*, *15*(1), 72–82.

Moskowitz, L. eta Weiselberg, E. (2017). Anorexia Nervosa/Atypical Anorexia Nervosa. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care, 47(*4), 70–84. https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2017.02.003

Nagata, J. M., Carlson, J. L., Golden, N. H., Long, J., Murray, S. B. eta Peebles, R. (2019). Comparisons of bone density and body composition among adolescents with anorexia nervosa and atypical anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders, 52*(5), 591–596. https://doi.org/10.1002/EAT.23048

Neumark-Sztainer, D. (2009). Preventing obesity and eating disorders in adolescents: What can health care providers do? *Journal of Adolescent Health*, *44*(3), 206–213. https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2008.11.005

Osasunaren Mundu Erakundea. (2021). *Obesity and overweight*. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., … Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *Medicina Fluminensis,* 57(4), 444–465. https://doi.org/10.21860/medflum2021_264903

Phillipou, A. eta Beilharz, F. (2019). Should we shed the weight criterion for anorexia nervosa? *Australian eta New Zealand Journal of Psychiatry*, *53*(6), 501–502. https://doi.org/10.1177/0004867418814958

Puhl, R. M. eta Lessard, L. M. (2020). Weight stigma in youth: Prevalence, consequences, and considerations for clinical practice. *Current Obesity Reports, 9*(4), 402–411. https://doi.org/10.1007/s13679-020-00408-8

Rastogi, R., Sieke, E. H., Nahra, A., Sabik, J. eta Rome, E. S. (2020). Return of menses in previously overweight patients with eating disorders. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology, 33*(2), 133–138. https://doi.org/10.1016/j.jpag.2019.11.002

Sawyer, S. M., Whitelaw, M., Le Grange, D., Yeo, M. eta Hughes, E. K. (2016). Physical and psychological morbidity in adolescents with atypical anorexia nervosa. *Pediatrics*, *137*(4), e20154080. https://doi.org/10.1542/peds.2015-4080

Sim, L. A., Lebow, J. eta Billings, M. (2013). Eating disorders in adolescents with a history of obesity. *Pediatrics*, *132*(4), e1026–e1030. https://doi.org/10.1542/peds.2012-3940

Steinhausen, H. -C. eta Glanville, K. (1983). A long-term follow-up of adolescent anorexia nervosa. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *68*(1), 1–10. https://doi.org/10.1111/J.1600-0447.1983.TB06974.X

Strober, M., Bowen, E. eta Preble, J. (1985). Predictors of weight change in juvenile anorexia nervosa. *Fnternational Journal of Fating Disorders*, *4*, 605–608.

Swenne, I. (2016). Influence of premorbid BMI on clinical characteristics at presentation of adolescent girls with eating disorders. *BMC Psychiatry*, *16*(1), 81. https://doi.org/10.1186/S12888-016-0788-7

Vartanian, L. R. eta Porter, A. M. (2016). Weight stigma and eating behavior: A review of the literature. *Appetite*, *102*, 3–14. https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.01.034

Welch, E., Ghaderi, A. eta Swenne, I. (2015). A comparison of clinical characteristics between adolescent males and females with eating disorders. *BMC Psychiatry*, *15*(1), 45. https://doi.org/10.1186/S12888-015-0419-8

8. Eskerrak eta Oharrak

Lan hau Psikologiako Gradu Amaierako lan batetik eratorria da, eta Eusko Jaurlaritzako 2021-2022 ikasturterako Ikasiker lankidetza-bekaren pean gauzatu da.

Bilbo Handiko haur eta nerabeen profil obesogenikoa, elikadura-ohiturak eta dieta mediterraneoarekiko atxikidura

Silvia Caballero Sánchez[1], Itziar Hoyos Cillero[1]

[1]*Erizaintza Saila I. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea. Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU*

silvia.caballero@ehu.eus

Laburpena

Azken hamarkada honetan gainpisua edo obesitatea duten haur eta nerabeen prebalentzia-datuek nabarmen egin dute gora mundu mailan, baita Espainian ere. Elikadura-ohitura osasungarriek zein eredu dietetiko mediterraneoak funtsezko papera betetzen dute osasuna mantentzeko edo sustatzeko orduan. Hala ere, dieta mediterraneoarekiko atxikidura gero eta okerragoa da, gainpisua edo obesitatea izateko arriskua areagotu eta etorkizun hurbilean arazoak izateko probabilitatea handitzen da. Beraz, lan honetako helburua haur eta nerabeen profil obesogenikoari, elikadura ohiturei eta dieta mediterraneoarekiko atxikidurari buruzko ezagutza areagotzea da.

Hitz gakoak: obesitatea, dieta mediterraneoa, elikadura-ohiturak, haurrak, nerabeak.

Abstract

In the last decade, the prevalence of children and adolescents who are overweight or obese has experienced a notable increase worldwide, as well as in Spain. Both healthy dietary habits and the mediterranean dietary model play a fundamental role in maintaining or promoting health. However, adherence to the mediterranean diet is getting worse, increasing the recovery of overweight or obesity and increasing the probability of having problems in the near future. Therefore, the objective of this work is to broaden the knowledge about the obesogenic profile and dietary habits of children and adolescents and their adherence to the mediterranean diet.

Keywords: obesity, mediterranean diet, dietary habits, children, adolescents.

1. Sarrera eta motibazioa

Eskola eta nerabezaroko garaian gehiegizko pisua izatea gero eta arazo larriagoa bihurtu da mundu mailan, eta azken hamarkada honetan gainpisua edo obesitatea duten haur eta nerabeen prebalentziak gorakada nabarmena izan du Espainian (Bravo-Saquicela et al., 2022). Gainpisua eta obesitatea gastatutakoak baino kaloria gehiago kontsumitzearen ondorioz gertatzen dira, eta desoreka kaloriko horrek pisua eta gorputz-gantz gehiegi hartzea dakar. Desoreka kalorikoa portaera obesogeniko batzuen ondorioa da. Portaera obesogeniko ohikoenak honako hauek dira: jarduera fisikoaren maila baxuak eta portaera sedentario handiak izatea, loaldi laburragoa egitea, azukre handiko edariak hartzea, mantenugai gutxiko kontsumo altua izatea eta elikagai koipetsuak hartzea, besteak beste (Sisson et al., 2016). Beraz, badirudi dietaren kalitateak pisuaren igoeran eragin handia duela.

Zentzu horretan, dieta mediterraneoa (DM) eredu dietetiko osasungarritzat jotzen da. Izan ere, fruta, barazki eta zereal integral ugari kontsumitzea, haragi gorri gutxi kontsumitzea, jatorduetan ardoa neurrian edatea, arrainak jatea, eta dietan oliba-olioa koipe-iturri gisa erabiltzea dakar (Sofi et al., 2014). Adituen esanetan, eredu dietetiko mediterraneo hori osasun-egoera osasungarriago batekin lotuta dago, baita bizi-kalitate handiagorekin ere (Esteban-Gonzalo et al., 2019;). Gainera, frogatu da haur eta nerabeengan DMarekiko atxikidura ona izateak arrisku kardiobaskularreko hainbat faktore murrizten dituela (Magriplis eta Zampelas, 2020). Hala ere, zenbait egilek nabarmendu dute (Cabrera et al., 2015) Mediterraneoko herrialdeetako nerabeak eredu dietetiko mediterraneo tradizionala pixkanaka bertan behera uzten ari direla. Gainera, horren ordez, elikagai prozesatuen eta gantzen kontsumoa areagotu eta barazkien kontsumoa jaisten ari dela ondorioztatzen da, nerabeen bizitza arriskuan jarriz (Magriplis eta Zampelas, 2020).

Haurtzaroa eta nerabezaroa funtsezko uneak dira elikadura-ohitura egokiez jabetzeko. Izan ere, etapa horietan, helduarora arte eragin iraunkorra izango duten elikadura-ohiturak barneratu eta mantenduko dira, baita zahartzarora ere (Pearson eta Biddle, 2011), elikadura-ohitura arriskutsuak aldatzea erronka bat izanik. Esaterako, haurtzaroan edo nerabezaroan obesitatea pairatzeak 5 aldiz handiagotzen du helduaroan gizen izateko aukera, pisu osasungarria dutenekin alderatuta (Simmonds et al., 2016).

Zenbait egilek eredu dietetiko mediterraneoaren eta faktore antropometrikoen arteko erlazioa aztertu dute. Obesitatearen eta DMarekiko atxikiduraren arteko erlazioari dagokionez nolabaiteko eztabaida dagoen arren, zenbait ikerketak, haur eta nerabeen gainpisua edo obesitatea eredu dietetiko mediterraneo txarrarekin lotuta dagoela agerian jarri dute (Tognon et al., 2014). Hala ere, beste egile batzuek ez dute erlazio argirik aurkitu eta zalantzan jartzen dute DMaren garrantzia haur eta nerabeen obesitatearen aurkako faktore babesle gisa (Lassale et al., 2022).

Gai honi buruzko ezagutza handiagoa izateko asmoarekin, azterlan honen helburu orokorra Bilbo Handiko 11-12 urteko haurren eta 14-15 urteko nerabeen lagin batean DMarekiko atxikidura deskribatzea izan da, KIDMED izeneko galdetegia oinarri hartuta eta bi hezkuntza-etapa desberdinak kontuan hartuz. Horretaz gain, DMarekiko atxikidura txikia izatea, haur eta nerabeen gainpisua eta obesitatearekin elkartzearen bitartekari partziala izan daitekeen ere aztertu nahi izan da.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Gure inguruko haur eta nerabeen obesitatearen prebentzio-neurriak egokiak izan daitezen, interesgarria eta zentzuzkoa litzateke, profil obesogenikoa eta DMarekiko atxikidurari buruzko ezagutzak zabaltzea. Beraz, ikerketa honen helburu zehatza, Bilbo Handiko Lehen Hezkuntzako (LH) eta Derrigorrezko Bigarren Hezkuntzako (DBH) ikasleen profil obesogenikoaren eta DMarekiko atxikiduraren arteko erlazioa aztertzea izan da. Horretarako, bi helburu zehaztu dira: 1) Bilbo Handiko haur eta nerabeen profil obesogenikoa, elikadura-ohiturak eta DMarekiko atxikidura deskribatzea; 2) DMarekiko atxikiduraren eta profil obesogenikoaren arteko erlazioak aztertzea, adinak duen eragina agerian jarriz.

3. Ikerketaren muina

3.1 Diseinua

Ikerketa honetan, Bilbo Handiko LHko eta DBHko 515 ikaslek, 265 haurrek (11-12 urte) eta 250 nerabek (14-15 urte), parte hartu zuten. Ikastetxe parte-hartzaileek ezaugarri sozioekonomiko desberdinak zituzten Bilboko Behatoki Sozioekonomikoaren datuen arabera (Bilboko Udala, 2009). Ikerketa, Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) Gizakiekin lotutako Ikerketarako Etika Batzordeak (GIEB) onartu zuen eta datuak 2010-2011 ikasturte bitartean jaso ziren.

Ikasleek elikadura-ohiturei buruzko galdeketa bat bete zuten, eskola-orduetan ikerketa-taldeko kideen laguntzarekin. Galdetegian, ikasleen DMarekiko atxikidura neurtzen zen, KIDMED izeneko galdeketa fidagarria eginez (Serra-Majem et al., 2004; Mariscal-Arcas et al., 2009), non elikadurari buruzko 16 item-galdera agertzen ziren. Ikasleen ama-hizkuntzaren arabera, galdetegia gaztelaniaz eta euskaraz pasa zen, eta ikerketa-taldeko kideek ikasleek egindako ulermen-zalantzei erantzun zieten datuak jaso zirenean. Galderen erantzun posibleak egia edo gezurra ziren, eta haietako 12 itemek konnotazio positiboa zuten (adibidez, oliba-olioa etxean erabiltzea; +1 puntu) eta 4 itemek konnotazio negatiboa (adibidez, ez gosaltzea; -1 puntu). Lortutako puntuazio totalaren arabera (0-12 artean) DMarekiko atxikidura hiru kategoriatan sailkatu zen: (1) Atxikidura ona 8-12 punturen artean; (2) Atxikidura ertaina 4-7 punturen artean; (3) Atxikidura baxua 0-3 punturen artean. Zenbat eta puntuazio altuagoa lortu, orduan eta DMarekiko atxikidura hobeagoa zen. Ikertzaileek, ikasleak pisatu eta neurtu zituzten, ikasleen gorputz masa indizea (GMI) kalkulatzeko. Geroago, ikasleak International Obesity Task Force-ren 4 kategorietan sailkatu ziren (pisu txikia, pisu normala, gehiegizko pisua eta obesitatea) (Cole, 2000).

Datuak IBM SPSS (v.23) programa informatiko estatistikoarekin analizatu ziren. Adin-tarte ezberdinetako bataz-bestekoen arteko konparaketak t-Student probaren bitartez lortu ziren, eta aldagai kategorikoetako analisiak khi-karratuarekin egin ziren. Era berean, aldagaien arteko erlazioak aztertzeko erregresio estatistiko probak, Odds Ratio-ak (OR) lortu ziren, eta esangura estatistikoa $p \leq 0,05$ izan zen.

3.1 Emaitzak

3.1.1 Ikasleen profil obesogenikoaren datu deskriptiboak

Ikasleen profil obesogenikoaren datuak 1. taulan erakusten dira, adina eta generoaren arabera sailkatuak. LHn mutilen GMIa 18,50ekoa zen, eta neskena, berriz, 18,99koa. DBHn aldiz, mutilen GMIa 20,75ekoa zen, eta neskena 21,07koa. GMI kategorizatuari dagokionez, mutil eta nesken arteko ezberdintasunak esanguratsuak izan ziren DBHn. Hau da, adin-talde horretan mutilek neskek baino pisu apur bat osasungarriagoa zuten (mutilek % 72 vs neskek % 76,7). Bestetik, mutilek neskek baino gainpisu gehiago zutela ikusi zen (mutilek % 26,3 vs neskek % 19,4), eta neskek mutilek baino obesitate gehiago pairatzen zutela aurkitu zen (mutilek % 0 vs neskek % 3,9).

1. taula. Ikasleen profil obesogenikoa

	Lehen Hezkuntza (LH)				Bigarren Hezkuntza (BH)						
	Totala (265) % 51,5	Mutilak (119) % 44,9	Neskak (146) % 55,1		Totala (250) % 48,5	Mutilak (118) % 47,2	Neskak (132) % 52,8		Denak	Mutilak	Neskak
	ME (RI)	ME (RI)	ME (RI)	Pa	ME (RI)	ME (RI)	ME (RI)	Pa	Pb	Pb[a]	Pb[b]
GMI	18,76 (3,73)	18,50 (3,17)	18,99 (4,00)	0,80	20,91 (3,53)	20,75 (3,87)	21,07 (3,49)	0,05			
	(n) %	(n) %	(n) %	Pa	(n) %	(n) %	(n) %	Pa	Pb	Pb[a]	Pb[b]
GMI kategorizatua											
- Pisu txikia	(6) 2,3	(1) 0,8	(5) 3,5	0,47	(6) 0,8	(2) 1,7	(0) 0	< 0,05	0,43	0,20	0,08
- Pisu normala	(184) 70,5	(87) 73,1	(97) 68,3		(184) 74,5	(85) 72,0	(99) 76,7				
- Gehiegizko pisua	(63) 24,1	(27) 22,7	(36) 25,4		(56) 22,7	(31) 26,3	(25) 19,4				
- Obesitatea	(8) 3,1	(4) 3,4	(4) 2,8		(8) 2,0	(0) 0	(5) 3,9				
Gainpisua / obesitatea	(71) 27,2	(31) 26,1	(40) 28,2	0,70	(61) 24,7	(31) 26,3	(30) 23,3	0,58	0,52	0,96	0,35

Pa Ikaleeen generoaren araberako desberdintasunak.; Pb Ikasleen adinaren araberako desberdintasunak.
Pb[a] LH eta DBHko mutilen arteko desberdintasunak.; Pb[b] LH eta DBHko nesken arteko desberdintasunak.

3.1.2 Ikasleen DMarekiko atxikidura eta elikadura-ohiturak

Ikasleen elikadura-ohituren ezagutzan sakontzeko, DMarekiko atxikiduraren azterlana egin zen, KIDMED indizea aztertuz. Emaitzak, 2. taulan erakusten dira. Nerabeek haurrek baino DMarekiko atxikidura okerragoa zuten. Hau da, DMarekiko atxikidura ona zuten ikasleen kopurua txikiagoa zen DBHn LHn baino (LHn % 46,9 vs DBHn % 35,7), eta atxikidura ertaina (LHn % 46,9 vs DBHn % 52) edo pobrea (LHn % 6,3 vs DBHn %12,3) zuten ikasleen kopurua handiagoa zen DBHn LHn baino.

2. taulan ere KIDMED indizearen itemen emaitzak erakusten dira (taulako emaitzek 16 itemen baiezko datuak adierazten dituzte), adinaren eta generoaren arabera sailkatuak. Orokorrean, haurrek nerabeek baino elikadura-ohitura hobeagoak zituzten. Hau da, egunean behin baino gehiagotan barazki freskoak edo egosiak jaten zituzten (LHn % 71,1 vs DBHn % 62,1), aldizka arraina jaten zuten (LHn % 33,6 vs DBHn % 19,8), eta aldizka fruitu lehorrak jaten zituzten (LHn % 63,3 vs DBHn % 53,6) ikasleen kopurua handiagoa zen LHn DBHn baino. Gainera, ia egunero pasta edo arroza (LHn %7 vs DBHn % 13,7) edo egunean behin baino gehiagotan gozokiak (LHn % 21,1 eta DBHn % 32,4) jaten zituzten ikasleen kopurua handiagoa zen DBHn LHn baino. Horrekin lotuta, adinen artean ezberdintasun esanguratsurik aurkitu ez ziren arren, egunero fruta edo zuku naturala hartzen zuten (LHn % 84,8 vs DBHn % 79,4), egunero 2. fruta-pieza bat jaten zuten (LHn % 52,7 vs DBHn % 46,8), eta esneki bat gosaltzen zuten (LHn % 86,2 vs DBHn % 80,1) ikasleen kopurua handiagoa zen LHn DBHn baino. Azkenik, gosaltzen ez zuten (LHn % 25 vs DBHn % 31,9) edo opil industrialak gosaltzen zituzten (LHn % 52,3 vs DBHn % 53,4) ikasleen kopurua handiagoa zen DBHn LHn baino, adinarekin elikadura-ohiturak okerrera joateko goranzko joera adieraziz.

Hala ere, ikerketa honetan espero ez ziren emaitza batzuk ere aurkitu ziren. Adibidez, astean behin baino gehiagotan lekaleak (LHn % 18 vs DBHn % 25,4), eta gosaltzeko zereal bat edo deribatuak jaten zituzten (LHn % 2 vs DBHn % 33,6) ikasleen kopurua handiagoa zen DBHn LHn baino. Eta, adinak gora egin ahala, mutilen (LHko mutilek % 3,4 vs DBHko mutilek % 37,3) zein nesken artean (LHko neskek % 0,7 vs DBHko neskek % 30,2) gosaltzeko zerealen kontsumoak gora egiten zuela ikusi zen.

Generoari dagokionez, LHn, mutilen eta nesken artean ezberdintasun esanguratsuak aurkitu ziren elikadura-ohitura batzuetan. Esate baterako, ia egunero pasta edo arroza (mutilek % 11,1 vs neskek % 3,6) eta egunean behin baino gehiagotan gozokiak (mutilek % 26,5 vs neskek % 16,5) jaten zituzten ikasleen kopurua handiagoa zen mutilen artean nesken artean baino. Aldiz, egunean behin barazki

freskoak edo egosiak jaten zituzten (mutilek % 70,9 vs neskek % 58,3), etxean oliba-olioa erabiltzen zuten (mutilek % 34,2 vs neskek % 20,1), eta egunero 2 jogurt eta/edo gazta pixka bat (40 g) (mutilek % 69,2 vs neskek % 46,8) jaten zuten ikasleen kopurua handiagoa zen mutilen artean nesken artean baino.

Era berean, DBHn, ezberdintasun esanguratsu batzuk ere aurkitu ziren. Esaterako, egunero fruta edo zuku naturala (mutilek % 73,7 vs neskek % 84,6) edo 2. fruta-pieza bat (mutilek % 39,8 vs neskek % 53,1) jaten zuten, eta egunean behin baino gehiagotan barazki freskoak edo egosiak (mutilek % 50,8 vs neskek % 72,3) jaten zituzten ikasleen kopurua handiagoa zen nesken artean mutilen artean baino. Gainera, egunean behin baino gehiagotan gozokiak jaten zituzten ikasleen kopurua handiagoa zen mutilen artean nesken artean baino (mutilek % 39,3 vs neskek % 26,2). Bukatzeko, gure harridurarako, adin-tarte horretan, etxean oliba-olioa erabiltzen zuten (mutilek % 37,3 vs neskek % 25,4), edo gosaltzen ez zuten (mutilek % 38,1 vs neskek % 26,2) ikasleen kopurua handiagoa zen mutilen artean nesken artean baino.

2. taula. DMarekiko atxikidura eta elikadura-ohituren deskribapena

	Lehen Hezkuntza (LH)				Bigarren Hezkuntza (BH)						
	Totala	Mutilak	Neskak		Totala	Mutilak	Neskak		Denak	Mutilak	Neskak
	Me (DE)	Me (DE)	Me (DE)	Pa	Me (DE)	Me (DE)	Me (DE)	Pa	Pb	Pb[a]	Pb[b]
KIDMED indizea	7,14 (2,28)	7,08 (2,32)	6,81 (2,25)	0,70	6,40 (2,50)	6,08 (2,61)	6,70 (2,36)	0,05	0,001	< 0,01	0,08
	(n) %	(n) %	(n) %	Pa	(n) %	(n) %	(n) %	Pa	Pb	Pb[a]	Pb[b]
DMarekiko atxikidura											
- Pobrea (≥ 8)	(16) 6,3	(10) 8,5	(6) 4,3	0,37	(30) 12,3	(17) 14,7	(13) 10,2	0,37	< 0,01	0,07	0,10
- Ertaina (4 - 6)	(120) 46,9	(54) 46,2	(66) 47,5		(127) 52,0	(62) 53,4	(65) 50,8				
- Ona (≤ 3)	(120) 46,9	(53) 45,3	(67) 48,2		(87) 35,7	(37) 31,9	(50) 39,1				
Egunero fruta edo zuku naturala hartu	(217) 84,8	(99) 84,6	(118) 84,9	0,95	(197) 79,4	(87) 73,7	(110) 84,6	< 0,05	0,11	< 0,05	0,95
Egunero 2. fruta-pieza bat jan	(135) 52,7	(59) 50,4	(76) 54,7	0,49	(116) 46,8	(47) 39,8	(69) 53,1	< 0,05	0,18	0,10	0,79
Egunean behin barazki freskoak edo egosiak jan	(164) 64,1	(83) 70,9	(81) 58,3	< 0,05	(163) 65,7	(79) 66,9	(84) 64,6	0,69	0,69	0,50	0,28
Egunean behin baino gehiagotan barazki freskoak edo egosiak jan	(182) 71,1	(83) 70,9	(99) 71,2	0,96	(154) 62,1	(60) 50,8	(94) 72,3	0,001	< 0,05	< 0,01	0,84
Aldizka arraina jan (astean 2-3 aldiz gutxienez)	(86) 33,6	(35) 70,1	(51) 36,7	0,25	(49) 19,8	(24) 20,3	(25) 19,2	0,82	0,000	0,09	0,001
Astean behin baino gehiagotan janari azkarreko jatetxe batera joan	(189) 73,8	(82) 70,1	(107) 77,0	0,21	(169) 68,1	(74) 62,7	(95) 73,1	0,08	0,16	0,23	0,46
Lekaleak gustatzen zaizkio eta astean behin baino gehiagotan jan	(46) 18,0	(25) 21,4	(21) 15,1	0,19	(63) 25,4	(35) 29,7	(28) 21,5	0,14	< 0,05	0,14	0,17
Ia egunero pasta edo arroza jan (astean 5 aldiz edo gehiagotan)	(18) 7,0	(13) 11,1	(5) 3,6	< 0,05	(34) 13,7	(21) 17,8	(13) 10,0	0,07	< 0,05	0,14	< 0,05
Zerealak edo deribatuak (ogia, etab.) gosaldu	(5) 2,0	(4) 3,4	(1) 0,7	0,12	(83) 33,6	(44) 37,3	(39) 30,2	0,24	0,000	0,000	0,000
Aldizka fruitu lehorrak jan (astean 2-3 aldiz gutxienez)	(162) 63,3	(71) 60,7	(91) 65,5	0,42	(133) 53,6	(57) 48,3	(76) 58,5	0,10	< 0,05	0,05	0,23
Etxean oliba-olioa erabili	(66) 26,6	(40) 34,2	(28) 20,1	< 0,05	(77) 31,0	(44) 37,3	(33) 25,4	< 0,05	0,26	0,62	0,30
Ez du gosaltzen	(64) 25,0	(33) 28,2	(31) 22,3	0,27	(79) 31,9	(45) 38,1	(34) 26,2	< 0,05	0,08	0,10	0,46
Esneki bat gosaldu (jogurtak, esnea, etab.)	(219) 86,2	(103) 89,6	(116) 83,5	0,16	(197) 80,1	(92) 78,6	(105) 81,4	0,58	0,06	< 0,05	0,65
Opil industrialak gosaldu	(134) 52,3	(61) 52,1	(73) 52,5	0,95	(132) 53,4	(68) 58,1	(64) 49,2	0,16	0,80	0,35	0,59
Egunero 2 jogurt eta/edo gazta pixka bat jan (40 g)	(146) 57,0	(81) 69,2	(65) 46,8	0,000	(147) 59,5	(75) 64,1	(72) 55,4	0,16	0,57	0,40	0,15
Egunean behin baino gehiagotan gozokiak jan	(54) 21,1	(31) 26,5	(23) 16,5	0,05	(80) 32,4	(46) 39,3	(34) 26,2	< 0,05	< 0,01	< 0,05	0,05

Pa Ikaleeen generoaren araberako desberdintasunak.; Pb Ikasleen adinaren araberako desberdintasunak.
Pb[a] LH eta DBHko mutilen arteko desberdintasunak.; Pb[b] LH eta DBHko nesken arteko desberdintasunak.

3.1.3 Ikasleen DMarekiko atxikiduraren eta profil obesogenikoaren arteko erlazioa

Haur eta nerabeen DMarekiko atxikiduraren eta profil obesogenikoaren arteko erlazioa 3. taulan deskribatzen da. DMarekiko atxikidurak okerrera egin ahala, LHko ikasleek eta zehazki, adin horretako mutilek, gainpisua eta/edo obesitatea izateko aukera handiagoak zituzten, atxikidura hobe batekin alderatuta. Hau da, LHn DMarekiko atxikidura pobrea zenean, ikasleek gainpisua eta/edo obesitatea pairatzeko aukera 6 aldiz biderkatzen zen (OR 6,73 % 95 KI 2,01-22,46), eta ia 10 aldiz adin horretako mutilen kasuan (OR 9,91 % 95 KI 1,97-49,92).

3. taula. DMarekiko atxikiduraren eta gehiegizko pisua/obesitatearen arteko erlazioa

		Gainpisua / obesitatea					
		Lehen Hezkuntza (LH)			Bigarren Hezkuntza (BH)		
		Totala	Mutilak	Neskak	Totala	Mutilak	Neskak
		OR (% 95 KI)	OR (% 95 KI)	OR (% 95 KI)	OR (% 95 KI)	OR (% 95 KI)	OR (% 95 KI)
DMarekiko atxikidura	- Pobrea	6,73** (2,01-22,46)	9,91** (1,97-49,92)	5,55 (0,76-40,47)	0,91 (0,33-2,52)	0,93 (0,22-3,96)	0,92 (0,20-4,07)
	- Ertaina	1,19 (0,63-2,25)	1,15 (0,41-3,20)	1,22 (0,53-2,79)	1,08 (0,55-2,10)	1,37 (0,49-3,79)	0,86 (0,34-2,14)

**p < 0,01

3.2 Eztabaida

3.2.1 Ikerketaren emaitza nagusia

Badirudi generoak eta adinak, profil obesogenikoan, DMarekiko atxikiduran eta elikadura-ohituretan eragina dutela. Oro har, DBHko ikasleek LHko ikasleek baino elikadura-ohitura txarragoak dituzte, eta horrek eragin negatiboa izan dezake DMarekiko atxikiduran eta profil obesogenikoan. Gainera, ikerketa honek DMarekiko atxikiduraren eta ikasleen gehiegizko pisuaren artean lotura dagoela erakutsi du. Ondorioz, aurkikuntza horiek nabarmentzen dute garrantzitsua dela adina eta generoa kontuan hartzea elikadura-ohitura osasungarriak sustatzeko eta ikasleen obesitatea prebenitzeko esku-hartzeak diseinatzean.

3.2.2 Gai honi buruz ezagutzen dena

Dirudienez, nagusitu ahala ikasleek pisu gehiago hartzeko joera dute. LHn ez bezala, DBHko ikasleek osasunerako hain osasungarriak ez diren elikagaiak kontsumitzen hasten dira (Mayne et al., 2020) eta haien elikadura-ohitura dietetikoak okerrera doaz. Horrek ikasleen pisua handitzea ekar lezake. Gainera, nerabezaroa garapen-etapa bat da, non metabolismoa azeleratuta dagoen eta energia-gastua handitzen den. Horren ondorioz, baliteke kilokalorien kontsumoa handitzea DBHko ikasleen artean.

Aztertutako datuen arabera, sexuaren araberako ezberdintasunak ere iradokitzen dira bi adin-taldeetan, literaturarekin bat eginez (de Bont et al., 2022). Adituen esanetan, mutilen eta nesken arteko jarduera fisiko eta elikadura-ohiturak desberdinak dira (batez ere nerabezaroan) eta generoan oinarritutako gorputz-idealak (mutilentzat indartsua eta sasoian egotea eta neskentzat argala izatea) nabarmenagoak eta eraginkorragoak bihurtzen dira nerabeen portaera dietetikoetan (Deslippe et al., 2021). Oro har, adin honetan neskek pisua/bolumena galtzeko dieta egiten dute (Moreno et al., 2019) eta haien GMIa osasuntsua izaten da, eta hori bat dator ikerketa honen emaitzekin. Hala ere, neskek mutilek baino jarduera fisiko gutxiago egiten dute eta sedentarioagoak dira (ALADINO, 2020), eta ondorioz, obesitatea izateko arriskua igotzen da. Ikerketa horretan deskribatu zen DBHko neskek mutilek baino obesitate handiagoa zutela.

Duela gutxi argitaratutako metaanalisi baten arabera, ikasleen gehiegizko pisuarekin/obesitatearekin lotutako faktoreak hauek dira: nahiko jarduera fisikoa ez egitea, multimedia-jarduera sedentarioak izatea, egunero ez gosaltzea, fruta eta barazkien kontsumo murriztua izatea, gozokiak jatea, edari azukredunen kontsumoa handitzea, astean 3 aldiz janari azkarra jatea eta/edo elikagai frijituak jatea, alkohol- eta tabako-kontsumoa, eta gaizki lo egitea (Poorolajal et al., 2020). Gure ikerketan, faktore horietako batzuk adinaren eta generoaren arabera aztertu ziren, baita ikasleen DMarekiko atxikidura ere.

Alde batetik, LHn DMarekiko atxikidura txarra zutenak % 6,3 ziren eta DBHn, berriz, ehunekoa bikoitza zen (% 12,3). Gure emaitzek agerian jarri dute DMarekiko atxikidura adinarekin okerrera doala, eta hori bat dator beste ikerketa batzuekin (Iaccarino et al., 2017). Generoari dagokionez, duela gutxi

argitaratutako beste ikerketa batean ez bezala (Sánchez-Rodríguez et al., 2022), gure ikerketan ez zen DMarekiko atxikiduran nesken eta mutilen artean desberdintasun esanguratsurik aurkitu. Hala ere, emaitza hauek kontu handiarekin interpretatu behar dira, kontsumoaren maiztasunari buruz bakarrik galdetu baitzen, eta ez kontsumitutako kantitateei buruz.

Beste alde batetik, egunero eta/edo astero kontsumitu beharko liratekeen elikagaiei dagokienez, oro har, fruta, barazkiak, arraina eta fruitu lehorrak jaten zituzten ikasleen ehunekoa LHn handiago zela behatu zen. Eta gutxiago kontsumitu beharko liratekeen elikagaiei dagokienez, oro har, pasta, opil industrialak eta gozokien kontsumoa ere handiagoa zela DBHn azpimarratu behar da. Ikerketa longitudinalen arabera, DBHko ikasleek fruta eta barazki gutxiago kontsumitzen dituzte, azukredun edari gehiago, eta askotan, otordu batzuk saltatzen dituzte (Lytle et al., 2000). Gosaltzeko ohiturari dagokionez, gure ikerketan adierazi da LHn DBHn baino ikasle gehiagok gosaltzen zutela. Adinari lotutako gosari-kontsumoan beheranzko joera ikusi da Espainian. 2018an egindako HBSC azterlanaren emaitzen arabera, 11-12 urteko haurren %71ak gosaltzen du, eta 17-18 urtekoen artean aldiz, % 56ak (Moreno et al., 2019), eta datu horiek azterlan honetakoekin bat datoz.

Gure harridurarako, elikadura-ohitura guztiak ez ziren txarrak nerabeen artean. Adibidez, zerealen eta lekaleen kontsumoa handiagoa zen DBHn LHn baino, eta janari azkarra gehiago kontsumitzen zen LHn. Egungo literaturak iradokitzen duenez nerabezaroan mutilek janari azkar gehiago kontsumitzen dute (Black eta Billette, 2015), eta neskek, berriz, otorduak alde batera uzteko joera handiagoa izaten dute (Moreno et al., 2019), ikerketa honetan aurkitutako emaitzetan ez bezala. Ondorioz, etorkizuneko ikerketek elikadura-ohitura horien azterketan sakondu beharko lukete.

Literaturak nerabeen dietan eragina izan dezaketen hainbat faktore aipatzen ditu. Horien artean, gizarte-, familia- eta komunitate-faktoreak nabarmentzen dira. LHn ez bezala, DBHn gazteak dirua maneiatzen hasten dira eta kalean ordu asko pasatzen dituzte lagunekin. Auzoan janari azkarra erosteko gaitasuna izateaz gain, lagunek jaten dutena haiek ere erosten dute taldean integratuta sentitzeko, batez ere, nesken kasuan. Neskek ikaskideekin harreman intimoak sortzeko elikagaiak erabil ditzaketela deskribatu da (Story et al., 2002). Gainera, adinarekin, ikasleak gurasoengandik banatzen dira eta batzuetan, bazkalorduetan ez dute gurasoekin batera bazkaltzen, eta ondorioz, elikadura-ohitura okerragoak izaten dituzte (Harrison et al., 2015). Bestalde, nerabeek osasungarriak ez diren elikagai asko nahiago dituzte, elikagai osasungarriak ez direlako hain erakargarriak (Kumar et al., 2016). Horregatik, badirudi DMarekiko atxikidurak okerrera egin dezakeela adinarekin, baita elikadura-ohiturek ere.

Oro har, gure ikerketaren arabera LHn nesken elikadura-ohiturak mutilenak baino hobeagoak ziren, salbuespenak egon arren, hala nola, eguneroko barazkien kontsumoan, oliba-olioaren kontsumoan eta jogurten kontsumoan. Baliteke barazkien kontsumoa egunean behin baino gehiagotan egitea nesken kasuan, eta ondorioz, galdera honen emaitzak oso fidagarriak ez izatea. Gainera, adin horretan, olio motak bereiztea zaila da. Beraz, erantzunak okerrak izan daitezke. Bestetik, jogurten kontsumoaren emaitzaren arrazoia gehiago ikertu beharko litzateke hurrengo ikerketetan. Era berean, DBHn argiago ikusi zen elikadura-ohiturak askoz hobeak zirela nesken artean mutilen artean baino. Badirudi, LHn elikadura-ohiturek obesitatean eragin handia zutela, eta aldi berean, gainpisua erregulatzen zutela nabarmengarria da. Hala ere, DBHn, beste faktore batzuek elikadura-ohiturek baino eragin handiagoa izan dezakete, hala nola, multimedia-ekintza sedentarioek. Ondorioz, etorkizunean gai horri buruz ikertzea iradokitzen da.

3.2.3 Mugak

Ikerketa honek, hainbat muga ditu. Lehengo arazo nagusia datuen jasotze-data da, 2010-2011ean burutu zen eta datu deskribatzaileek duten muga bat, beraien baliotasuna epe motzean iraungintzen dela bada ere, ikerketa honek burutzen dituen ekarpenak kontuan hartuta (aldagai ezberdinen arteko erlazioak eta genero eta adinaren arteko desberdintasunak aztertzea) emaitzak baliogarritasun handikoak direla agerian jarri da. Bestetik, ikerketaren diseinua da aipatu beharreko beste muga bat, zeharkakoa izanik ezin daitekeelako kausa-asoziazio erlazio zuzenik dagoenik baieztatu. Galdeketekin erlazionatuta, DMarekiko atxikidurari buruzko datuak, galdeketa auto-administratuen bitartez bildu ziren. Galdeketa horiek, ikasle gazteen kasuan batez ere, betetzeko zailak izan daitezkeela kontuan izan behar da, oroimenak edota ulermenak eragina izan dezaketelako. Horretaz gain, kontsumoaren maiztasunari buruz bakarrik galdetu zen, eta ez

kontsumitutako kantitateei buruz. Azkenik, Odds Ratio batzuen konfiantza-tarteen zabalerari dagokionez, konfiantza tarte eta ondorioz emaitza hauen zehaztasun maila baxua aipatu beharko lirateke, hainbat faktore egon daitezkeelako erlazio hauen azpian.

4. Ondorioak

Bilbo Handiko ikasleen profil obesogenikoa eta DMarekiko atxikidura adinarekin okerrera doaz. Bi faktore horien arteko erlazioa DBHn ikusi ez arren, LHn ikusi da. Badirudi, DMarekiko atxikidura ona izatea gehiegizko pisua eta/edo obesitatea saihesteko lagungarria izan daitekeela. Etorkizuneko norabideei begiratuz, LHtik aurrera elikadura-ohiturak eta DMarekiko atxikidura hobetzen laguntzeko ekintzak abiarazi beharko lirateke, hurrengo urteetan ikasleen osasuna eta pisua hobetu daitezen.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Guk dakigula, Euskadin ez dago DMarekiko atxikiduraren eta haur eta nerabeen profil obesogenikoaren arteko erlazioa aztertzen duten ikerketarik. Ikerketa honek LHko eta DBHko ikasleen DMarekiko atxikidura, elikadura-ohitura dietetiko eta profil obesogenikoari buruzko datuak azalerazten ditu, adinaren eta generoaren arabera sailkatuak, eta horri esker, haien arteko alderaketak egin daitezke, eta hezkuntza-etapa bakoitzeko ikasleen errealitatea deskribatu. DMarekiko atxikiduraren eta ikasleen profil obesogenikoaren arteko erlazioa argitzeko, logikoa da pentsatzea jarraipen-azterlan gehiago egin behar direla haur eta nerabeen lagin handiagoekin, elikadura-ohituren eta haien pisuaren arteko erlazioa aztertzeko.

6. Erreferentziak

ALADINO 2019ko ikerketa. (2020). *Elikadura, Jarduera Fisikoa, Haurren garapena eta Obesitatearen Ikerketa Espainian*. Madrilen.

Bilboko Udala. (2009). *Lan Ekintza*. Behatoki sozioekonomikoa.

Black, J. L., & Billette, J.-M. (2015). Fast food intake in Canada: Differences among Canadians with diverse demographic, socio-economic and lifestyle characteristics. *Canadian Journal of Public Health*, *106*(2), e52–e58. https://doi.org/10.17269/CJPH.106.4658

Bravo-Saquicela, D. M., Sabag, A., Rezende, L. F. M., & Rey-Lopez, J. P. (2022). Has the Prevalence of Childhood Obesity in Spain Plateaued? A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(9), 5240. https://doi.org/10.3390/ijerph19095240

Cabrera, S. G., Fernández, N. H., Hernández, C. R., Nissensohn, M., Román-Viña, B., & Serra-Majem, L. (2015). Test KIDMED; prevalencia de la Baja Adhesión a la Dieta Mediterránea en Niños y Adolescentes; Revisión Sistemática. *Nutricion Hospitalaria*, *32*(6), 2390–2399. https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.6.9828

Cole, T. J. (2000). Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *Bmj*, *320*(7244), 1240–1240. https://doi.org/10.1136/bmj.320.7244.1240

de Bont, J., Bennett, M., León-Muñoz, L. M., & Duarte-Salles, T. (2022). The prevalence and incidence rate of overweight and obesity among 2.5 million children and adolescents in Spain. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, *75*(4), 300–307. https://doi.org/10.1016/j.rec.2021.07.002

Deslippe, A. L., Tugault-Lafleur, C. N., McGaughey, T., Naylor, P.-J. (P. J. ., Le Mare, L., & Mâsse, L. C. (2021). Gender plays a role in adolescents' dietary behaviors as they transition to secondary school. *Appetite*, *167*, 105642. https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105642

Esteban-Gonzalo, L., Turner, A. I., Torres, S. J., Esteban-Cornejo, I., Castro-Piñero, J., Delgado-Alfonso, Á., … Veiga, Ó. L. (2019). Diet quality and well-being in children and adolescents: the UP&DOWN longitudinal study. *British Journal of Nutrition*, *121*(2), 221–231. https://doi.org/DOI: 10.1017/S0007114518003070

Harrison, M. E., Norris, M. L., Obeid, N., Fu, M., Weinstangel, H., & Sampson, M. (2015). Systematic review of the effects of family meal frequency on psychosocial outcomes in youth. *Canadian Family Physician*, *61*(2), e96-e106. http://www.cfp.ca/content/61/2/e96.abstract

Iaccarino Idelson, P., Scalfi, L., & Valerio, G. (2017). Adherence to the Mediterranean Diet in children and adolescents: A systematic review. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *27*(4), 283–299. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.01.002

Kumar, J., Adhikari, K., Li, Y., Lindshield, E., Muturi, N., & Kidd, T. (2016). Identifying barriers, perceptions and motivations related to healthy eating and physical activity among 6th to 8th grade, rural, limited-resource adolescents. *Health Education*, *116*(2), 123–137. https://doi.org/10.1108/HE-03-2014-0035

Lassale, C., Fitó, M., Morales-Suárez-Varela, M., Moya, A., Gómez, S. F., & Schröder, H. (2022). Mediterranean

diet and adiposity in children and adolescents: A systematic review. *Obesity Reviews*, *23*(S1), e13381. https://doi.org/10.1111/obr.13381

Lytle, L. A., Seifert, S., Greenstein, J., & McGovern, P. (2000). How Do Children's Eating Patterns and Food Choices Change over Time? Results from a Cohort Study. *American Journal of Health Promotion*, *14*(4), 222–228. https://doi.org/10.4278/0890-1171-14.4.222

Magriplis, E., & Zampelas, A. (2020). Chapter 3 - Mediterranean diet in children and adolescents. In V. R. Preedy & R. R. B. T.-T. M. D. (Second E. Watson (Eds.) (pp. 25–39). Academic Press. https//doi.org/10.1016/B978-0-12-818649-7.00003-5

Mariscal-Arcas, M., Rivas, A., Velasco, J., Ortega, M., Caballero, A., & Olea-Serrano, F. (2009). Evaluation of the Mediterranean Diet Quality Index (KIDMED) in children and adolescents in Southern Spain. *Public Health Nutrition, 12*(9), 1408-1412. https://doi.org/10.1017/S1368980008004126

Mayne, S. L., Virudachalam, S., & Fiks, A. G. (2020). Clustering of unhealthy behaviors in a nationally representative sample of U.S. children and adolescents. *Preventive Medicine*, *130*(November 2019), 105892. https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2019.105892

Moreno, C., Ramos, P., Rivera, F., Sánchez-Queja, I., Jiménez-Iglesias, A., García-Moya, I., … Villafuerte-Díaz, A. (2019). La adolescencia en España: salud, bienestar, familia, vida académica y social. Resultado del Estudio HBSC 2018. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 165. http://ibdigital.uib.es/greenstone/sites/localsite/collect/portal_social/index/assoc/msan0239.dir/msan0239.pdf

Pearson, N., & Biddle, S. J. H. (2011). Sedentary behavior and dietary intake in children, adolescents, and adults: A systematic review. *American Journal of Preventive Medicine*, *41*(2), 178–188. https://doi.org/10.1016/j.amepre.2011.05.002

Poorolajal, J., Sahraei, F., Mohamdadi, Y., Doosti-Irani, A., & Moradi, L. (2020). Behavioral factors influencing childhood obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity Research and Clinical Practice*, *14*(2), 109–118. https://doi.org/10.1016/j.orcp.2020.03.002

Sánchez-Rodríguez, L., Fernández-Escobar, C., Ordaz-Castillo, E., & Royo-Bordonada, M. Á. (2022). Adherencia a la dieta mediterránea y su asociación con factores sociodemográficos y antropométricos en adolescentes de Madrid. *Revista Espanola de Salud Publica*, *96*, 1–13. https://www.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/VOL96/ORIGINALES/RS96C_202210076.pdf

Serra-Majem, L., Ribas, L., Ngo, J., Ortega, R. M., García, A., Pérez-Rodrigo, C., & Aranceta, J. (2004). Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public Health Nutrition*, *7*(07), 931–935. https://doi.org/10.1079/PHN2004556

Simmonds, M., Llewellyn, A., Owen, C. G., & Woolacott, N. (2016). Predicting adult obesity from childhood obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*, *17*(2), 95–107. https://doi.org/10.1111/obr.12334

Sisson, S. B., Krampe, M., Anundson, K., & Castle, S. (2016). Obesity prevention and obesogenic behavior interventions in child care: A systematic review. *Preventive Medicine*, *87*, 57–69. https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2016.02.016

Sofi, F., Macchi, C., Abbate, R., Gensini, G. F., & Casini, A. (2014). Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutrition*, *17*(12), 2769–2782. https://doi.org/DOI: 10.1017/S1368980013003169

Story, M., Neumark-Sztainer, D., & French, S. (2002). Individual and Environmental Influences on Adolescent Eating Behaviors. *Journal of the American Dietetic Association*, *102*(3, Supplement), S40–S51. https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90421-9

Tognon, G., Hebestreit, A., Lanfer, A., Moreno, L. A., Pala, V., Siani, A., … Lissner, L. (2014). Mediterranean diet, overweight and body composition in children from eight European countries: Cross-sectional and prospective results from the IDEFICS study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *24*(2), 205–213. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2013.04.013

Hipokanpoko CB_1 hartzailearen funtzionamendua, berdina ar eta emeen artean?

Lucia Sangroniz-Beltran[1,2], Aitor Aranguren-Alberdi[1], Pablo Reyes[1,2], Nicolas Landgraf[1,2], Itziar Bonilla-Del Rio[1,2], Almudena Ramos[1,2], Pedro Grandes[1,2], Jon Egaña-Huguet[1,2], Edgar Soria-Gómez[1,2,3]

[1]Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU), Leioa, Bizkaia, [2]Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHUko Zientzia Parkea (UPV/EHU), Leioa, Bizkaia, [3]IKERBASQUE, Basque Foundation for Science,

jon.egana@ehu.eus

Laburpena

Hipokanpoko zirkuitoak berebiziko garrantzia dute hainbat prozesu kognitiboetan, hala nola nabigazioan edota memorian. Honez gain, prozesu hauetan zelula-mota askok (CB_1 hartzaileak mintzean adierazten dutenak) modu desberdinean parte hartzen dute. Lan honetan, hipokanpoko zirkuitu horietan parte hartzen duten neuronetako CB_1 hartzaileen zeregin espezifikoa eta sexuaren araberako funtzioa ezberdindu nahi ditugu. Honetarako CB_1-flox sagu ar eta emeetan hipokanpoarekin erlazionaturiko portaera frogak egin dira. Saguetan CRE bidezko CB_1 hartzailearen ezabapena eragin zen hipokanpoko neuronetan zuzenean bektore biralak (AAV-Cre) injektatuz.

Hitz gakoak: Hipokanpoa; CB_1 hartzailea, memoria, nabigazioa, sexu ezberdintasunak

Abstract

Hippocampal circuits play a crucial role in cognitive processes such as navigation or memory. Moreover, many cell types (expressing CB_1 receptors on their membranes) participate on a different way to develop such processes. In this work, we want to dissect the specific and sex-dependent role of CB_1 receptors in neurons that participate on those hippocampal circuits. We used hippocampus-related behavioral test in CB_1-flox male and female mice. These mice carried a specific CRE-mediated CB_1 deletion on hippocampal neurons, by direct viral vector (AAV-Cre) administration.

Keywords: hippocampus, CB_1 receptors, memory, navigation, sex differences

1. SARRERA ETA MOTIBAZIOA

Cannabis sativa landarearen konposatu psikoaktiboa den Delta-9-tetrahidrocannabinolaren (THC) itu nagusia endokannabinoide-sistema (ECS) da (Busquets-García eta lankideak., 2015). ECSa neuromodulazio sistema bat da, zeinak nerbio-sistema zentralaren garapenean, plastikotasun sinaptikoan eta kanpo-nahiz barne-inguruneko estimuluen erantzunean parte hartzen duen (Lu eta Mackie, 2016). Funtzionalki adierazi diren bi hartzaile kannabinoide dira nagusienak: CB_1R eta CB_2R. Hartzaile horiek aktibatzeak hainbat ondorio eragiten ditu fisiologia zelularrean, besteak beste, funtzio sinaptikoaren modulazioan, geneen transkripzioan eta zelulen mugigarritasunean (Howlet eta lankideak, 2002; Lu eta Mackie, 2016). Honez gain, sistemak erabiltzen dituen agonista endogenoak, hots, endokannabinoideak (eCB) ere identifikatu dira, N-arakidonoiletanolamina, anandamida edo AEA bezala ezagunagoa (Devane eta lankideak, 1992) eta 2- arakidonoilglizerola edo 2-AG (Sugiura eta lankideak, 1995).

eCBen sintesia alde postsinaptikoan gertatzen dela kontutan hartuta (Pertwee eta lankideak, 2010), eCBek bideratzen duten seinaleztapena atzerakaria dela iradoki zen. CB_1Rren aktibazioak neurotransmisoreak bukaera sinaptikoetatik askatzea eragozten du, bai GABA, bai glutamatoa, baita edozein neurotransmisore

mota ere. Horrek, CB_1Rri neurotransmisioa erregulatzeko gaitasuna ematen dio (Gerdeman eta lankideak, 2001). Mekanismo hori gehiegizko kitzikapenaren aurkako jarduera neurobabesle gisa proposatu da, nerbio sistema zentraleko (NSZ) neuronek bideratutako hainbat prozesutan eta asalduretan esku hartzen duelarik, hala nola, gosea, ikaskuntza eta oroimena, antsietatea, nabigazioa, neuroendekapena, epilepsia edo adikzioa (Kano eta lankideak, 2009; Di Marzo eta lankideak, 2015). Neuronez gain, eta neurri txikiagoan bada ere, CB_1R glia zeluletan ere adierazten da, adibidez, astrozitoetan, oligodendrozitoetan edota mikroglian, non transmisio sinaptikoan eragiteko gai dela frogatu den (Navarrete eta Araque, 2010; Castillo eta lankideak, 2012). CB_1Rren beste azpipopulazioetako bat mitokondriak bezalako organuluetan kokatuta dago (Benard eta lankideak, 2012).

Garunean, CB_1Rren adierazpen-maila altuenetakoa duen egituretako bat hipokanpoa da, non neuronez gain (Hu eta Mackie, 2015), prozesu astrozitikoetan (Gutiérrez-Rodríguez eta lankideak, 2018) eta mintz mitokondrialetan espresatzen dela frogatu den, hauen funtzioetan eraginez (Hebert-Chatelain eta lankideak, 2014a, b). Esan bezala, eCBek plastikotasun sinaptikoa erregulatzen dute CB_1 hartzaileak aktibatuz (Castillo eta lankideak, 2012). Hau, garunean gertatzen den funtsezko prozesu bat da, zirkuitu neuronalek esperientzia berrietara egokitzeko eta horietatik ikasteko duten gaitasunean oinarritzen dena. Enbrioi-fasetik helduarora, ingurumen-estimuluek aldaketak eragiten dituzte funtzio sinaptikoan, eta banakako esperientziak ezinbestekoak dira oroitzapen berriak eratzeko edo egokitze hobea ekarriko duten jokabide berriak sortzeko. ECS transmisio sinaptikoaren funtsezko modulatzailea dela erakutsi da, eta, beraz, plastikotasun sinaptikoan duen parte-hartzea ukaezina da. (Chevaleyre eta Castillo, 2004).

Plastikotasun honi esker oroitzapenak sortzen dira (Martin eta lankideak, 2002) eta hipokanpoak oroitzapen mota ezberdinen sorkuntzan parte hartzen du. Hauen artean, adibidez, oroimen ez-espaziala den ezagutza-oroimena eratzearen erantzulea da (Burgess, 2002). Oroitzapen hau karraskariek objektu berriak ezagun dituztenak baino gehiago esploratzeko duten joeran oinarritzen da (Denniger eta lankideak, 2018). Hipokanpoak sortutako beste oroitzapen mota bat oroimen-espaziala da, hau objektuak, lekuak edota espezie bereko kideak ingurune ezagun edo ezezagun batean kokatzeko gaitasuna da (Rahman eta lankideak, 2017). Esplorazio-portaera eraginkorrak sustatzeko, saguek nabigazio-estrategia espazialak hautatzen dituzte, erreferentzia-puntuetan edo mapa kognitiboetan oinarrituta (Laricchiuta eta lankideak, 2020).

2. ARLOKO EGOERA ETA IKERKETAREN HELBURUAK

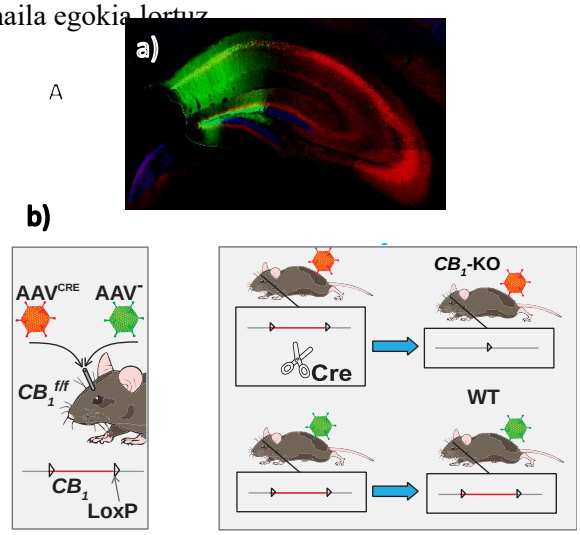
Aurretik aipatu bezala, CB_1R hipokanpoan aurki daiteke, zelula mota eta zelula barneko konpartimendu ezberdinetan (neuronetan, glia zeluletan edota mitokondrietan). Gainera, neuromodulazio sistema nagusietako bat izanik prozesu ezberdinetan hartzen du parte, hauen artean, hipokanpoak bideratzen dituen oroimen eta nabigazio prozesuen erantzuleetako bat da.
Orain arte eginiko ikerketetan, ECSaren partaidetza deskribatu bada ere hipokanpoko prozesu hauetan, hau era orokor baten egin da, hots, ez da ezberdindu CB_1 hartzaileak duen zeregin zehatzean zelula mota ezberdinetan eta hauek efektu global horretan duten partaidetzan.
Ikerketa honetan, hipokanpoko neuronetan kokaturiko CB_1 hartzaileen funtzioa gainerako zelula eta kokapenetan aurki daitekeen hartzailearen funtzioetatik ezberdindu nahi dugu. Honez gain, hartzaile hauek ar eta emeetan funtzio desberdina duten edo ez argitzea dugu helburu, izan ere, ordura arte egineko ikerketak arretan ECSak duen funtzioan enfokatu dira.

3. IKERKETAREN MUINA

Saguak:

Ikerketa honetan erabilitako saguak mutanteak dira. Hain zuzen ere, CB_1-flox saguaren eredua erabili zen. Honetan CB_1 hartzailearen proteina ekoizteaz arduratzen den genearen bi aldeetan proteina bat (loxP) atxikiturik daramate saguek. Proteina loxP horiek, CRE entzimarekin erreakzionatzean, haien artean kokatzen den genea ebakitzea lortzen dute, kasu honetan CB_1 hartzailea, eta hau sortzeko ezintasuna ematen da, hots, *de novo* sintesia oztopatzen da. Hau lortzeko ikerketarako interesgarria den burmuineko eremua aukeratu ondoren, honetan CRE entzima hori atxikiturik daraman birus bat injektatzen da zuzenean kirurgia estereotaxikoaren bitartez.

Hasteko, kirurgien aurretik, saguak banan-banan kokatzen dira kaioletan, eta tenperatura kontrolatzen duen armairu batean gordetzen dira esperimentuak irauten duen bitartean. Ura eta janaria nahi beste eskura dezakete esperimentuan zehar eta 12h/12h-ko argi/iluntasun ziklo bat ezartzen zaie, goizeko 8:00etatik arratsaldeko 20:00etara argia izanik. Ikerketa honetan sagu arrak eta sagu emeak erabili dira. Birusa administratzeko kirurgia burutzeko, lehenik sagua anestesiatu zen. Jarraian, erreflexurik ez duela egiaztatu ondoren, ilea moztu eta marko estereotaxikoan kokatu zen. Ondoren, buruko azala ireki eta taladro baten laguntzaz zulo bi egin ziren atlas estereotaxikoaren bidez lortutako koordenatuetan Bregma erreferentziatzat hartuta (garezurraren jostura guneen gurutzea). Hauek, saguen hipokanpo eremuaren gain egin ziren, bertan birusa askatzeko eta CB_1 hartzailearen sintesia neuronetan oztopatzeko. Horrela, nanoinjektore bat erabili zen (NANOJECT III; Drummond Scientific) tratamendua administratzeko, hau da, CRE entzima atxikiturik duen birusa (HC-CB_1-KO) edota kontrol birusa (HC-CB_1-WT), CRE entzima gabekoa, hipokanpoan txertatzeko (1. Irudia). Birusa bilateralki txertatu ondoren (250 ul alde bakoitzean), saguaren azala josi eta kaiolan sartu zen berriro eta 5 astez berreskuratzen utzi zen, birusaren errekonbinazio-maila egokia lortuz.



1. irudia: **a)** Saguen hipokanpoan birusaren adierazpena kolore berdez. **b)** Bi birus moten funtzionamenduaren azalpen eskematikoa, kontrola berdea eta CRE entzima daramana gorria litzatezke.

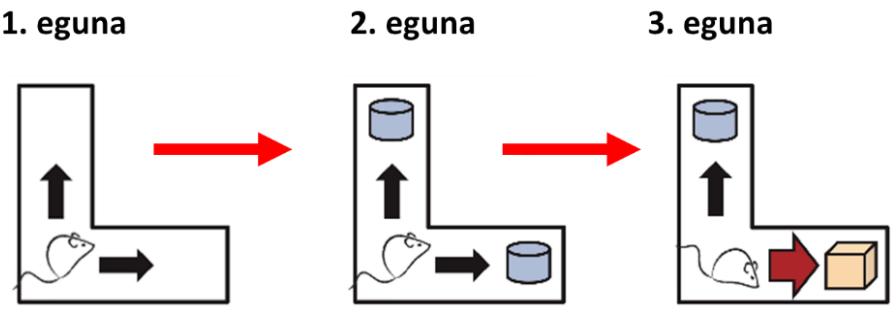
Portaera probak:

Portaera probak 13-14 asteko sagu ar eta emeetan egin ziren, baldintza bakoitzeko 6 animali erabiliz. Proba hasi baino 30 minutu lehenago, tenperatura eta aire jario kontrolatua zuen gela batean eduki ziren animaliak, girora egokitzeko. Proba guztiak baldintza berberetan egin ziren; gela berean, betiere argi fasean eta denbora-tarte berean (9:00-15:00). Animaliek jasandako tratamenduekiko, hau da, birus motarekiko, itsu ziren bi ikerlariek proba guztiak gainbegiratu zituzten. Horrez gain, emaitzen interpretazioa ahalik eta zorrotzena burutzeko asmoz, Barnes-en labirintoan lortutako emaitzen analisia ANYMAZE software-ren bitartez burutu zen. Esperimentu guztiak kamera digital batekin grabatu ziren (ARDUCam iDS). Usaimen seinaleak saihesteko, labirintoak eta objektuak EtOH % 70rekin garbitu ziren, azkenik urarekin garbituz proba bakoitzari hasiera eman aurretik. Saguen arteko aldeen esangura estatistikoa bi bideko ANOVA proben bidez edo Student T proba parametriko eta ez-parametrikoen bitartez aztertu zen. Emaitzak batezbestekoa ± S.E.M. gisa adierazi ziren software estatistiko pakete bat erabiliz (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc, San Diego, AEB). $p < 0.05$ balioak estatistikoki esanguratsutzat jo ziren.

Objektu berrien ezagutza proba (NOR testa):

Proba hau hipokanpo funtzioaren araberakoa den oroimen ez-espazialaren ebaluaketa egiteko erabili zen. Azterketa, plexiglasez eginiko L formako labirinto zuri batean egin zen, 90°-ko angeluan kokatutako bi korridorerekin (30 cm eta 35 cm luze, 4.5 cm zabal eta 15 cm garai), eta argi intentsitate ahul baten azpian (50 Lux). Hiru proba egin ziren jarraian (9 minutu bakoitza) 3 egunetan zehar. Lehena, ohitzeko eguna izan zen; non saguak bi besoen elkargunean jarri ziren, eta besoak libreki esploratzen utzi zitzaien. Bigarren egunean, bi objektu berdin jarri ziren beso bakoitzaren amaieran eta saguei objektuak esploratzen utzi zitzaien. Azken egunean, hasierako objektuetako bat objektu berri batek ordezkatu zuen. Objektu hori ezberdina zen forma, kolore eta testuran, eta ordezkatuaren posizio berdinean jarri zen; objektu ezagunak aldaketarik gabe iraun zuen. Objektu berriaren kokapena eta objektu berri eta ezagunen pareak ausaz ezarri ziren (2.irudia).

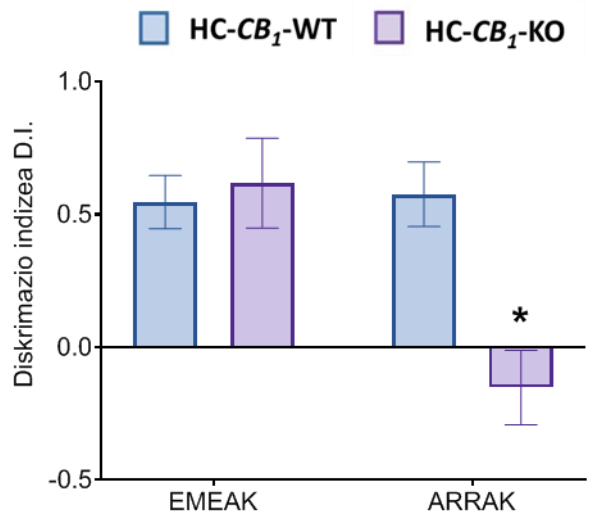
2. irudia: NOR test-an egun bakoitzean saguak bete behar duen prozeduraren eskema.



Tratamenduekiko itsu zen ikertzaile batek gutxienez, sagu bakoitzak esploratutako denbora neurtu zuen grabatutako bideoetan. Saguak sudurrarekin objektua 1 cm baino gutxiagora begira igarotzen zuen denbora jo zen miaketa positibotzat; ez zen positibotzat hartu objektu gainera igotzea edo hau murtxikatzea edota ikutzea.
Oroimen errendimendua ebaluatzeko, diskriminazio-indizea honela kalkulatu zen: objektu berria (TN) esploratzen emandako denboraren eta objektu ezaguna (TF) esploratzen emandako denboren arteko aldea zati miaketan emandako denbora osoa (TN+TF) (Puighermanal eta lankideak. 2009).

$$\text{Diskriminazio-indizea} = (TN-TF)/(TN+TF)$$

Horrela, objektu berriak ezagutzeko proban ar eta emeen arteko ezberdintasunak aurkitu ziren hipokanpoko CB_1 hartzailea neuronetatik ezabatu ondoren. Emeen kasuan ez zen aldaketa nabarmenik aurkitu, kontrol birusa jaso zuten emeetan diskriminazio indizea 0.54 ± 0.1zen bitartean, CRE entzimadun birusa jaso zuten horietan 0.61± 0.16 izan zen ($p = 0.720$). Aldiz, arretan aldaketa esanguratsuak aurkitu ziren bi tratamenduen artean. Kontrol birusa jaso zuten horietan diskriminazio indizea 0.55 ± 0.09 izan zen eta CRE entzima jaso zuten horiena -0.15 ± 0.14 (* $p = 0.011$) (3.irudia).

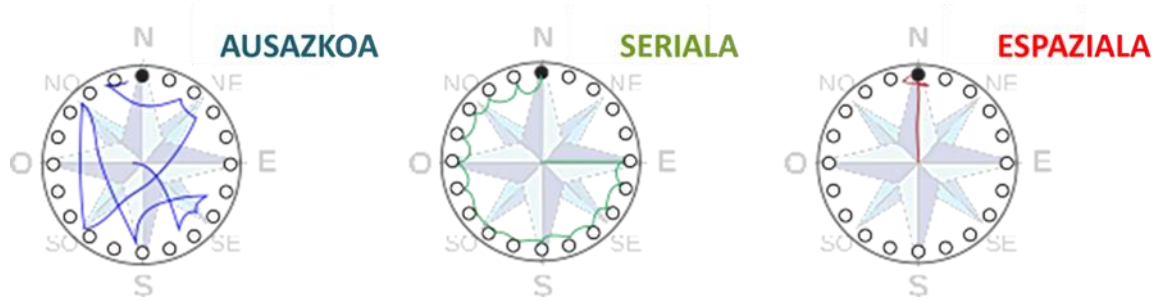


3.irudia: NOR testan: Sagu eme eta arren diskriminazio indizeak birusa jaso ondoren, bai kontrol zein CRE birusak. Esangura estatistikoa Student T proba parametrikoaren bitartez aztertu zen.. * $p < 0.05$. Datu guztiak batezbestekoa ± S.E.M. gisa adierazten dira.

Barnes-en labirintoa: oroimen- eta estrategia-espazialen testa (BM):

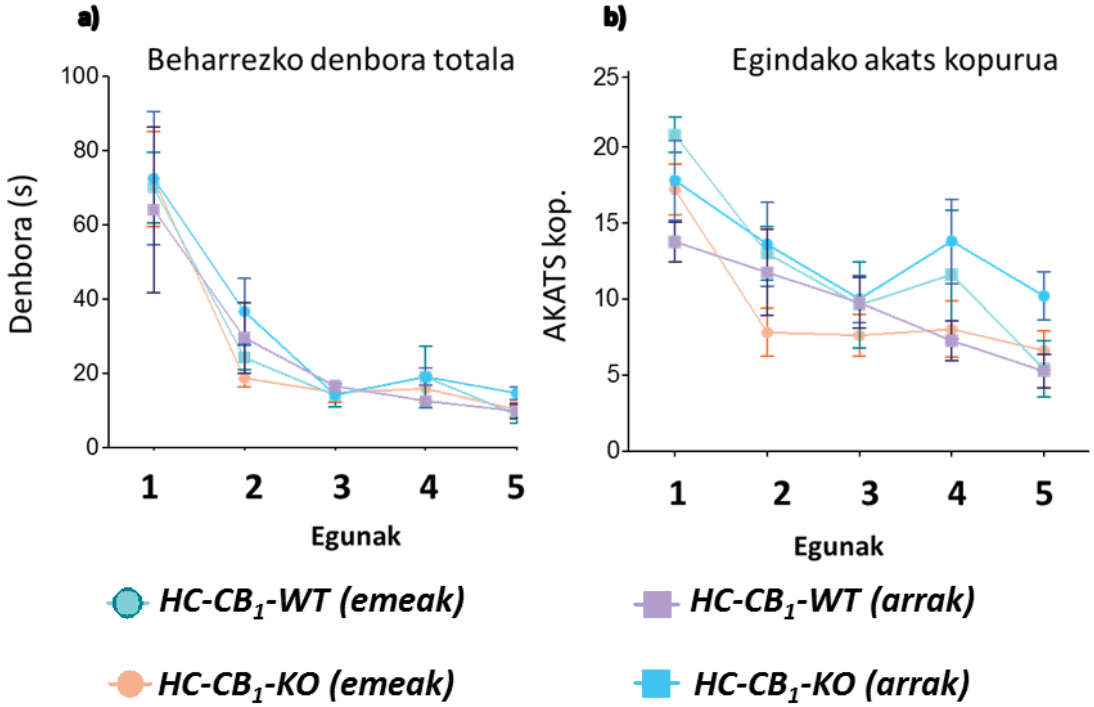
Ingurune lehorrean eginiko portaera-proba bat da, saguen oroimen espaziala aztertzeko (Bach eta lankideak, 1995). Oroimen-mota hori hipokanpoaren araberakoa da, eta saguek inguruko espazioan kokaturiko ikusmen-seinaleen eta ihes-kaxa finko baten arteko erlazioa ikasten dute. Rueda-Orozco eta lankideak (2008) deskribatutako BMrako egokitutako protokolo bat erabili dugu. Hala, plataforma zirkular garai bat erabili zen, perimetroaren inguruan 20 zulo dituena. Ihes-kaxa zulo baten azpian finkatu zen, gainerako 19 zuloak hutsik utzi zirelarik. Argi distiratsua eta espazio ireki garaiak saguentzat desatseginak direnez, labirintoaren altueraren diseinua eta goiko argiztapen-iturria izan ziren ihesa eragiteko faktore motibatzaileak. Ihes-kutxa eta gelan sakabanatutako ikusmen-pistak leku finko batean mantendu ziren probek iraun zuten bitartean, egunean lau proba egin ziren bost egunez sagu bakoitzarekin. Saguek hiru bilaketa-estrategia sekuentzia ezberdin erabili ohi dituzte ihes-kaxaren kokapena aurkitzeko (ausazkoa, seriala eta espaziala) (4.irduia).

4. irudia: Barnes-en labirintoan saguek ihes-kaxa aurkitzeko erabili ditzaketen estrategien azalpen eskematikoa.



Eguneroko saiakuntzetan, tratamenduarekiko itsuak ziren bi ikertzailek, saguek erakutsitako estrategiak puntuatu zituzten, eta zeregin bakoitza osatzeko erabilitako denbora neurtu ere. Honez gain, saguek egineko akatsak, hots, zulo desegokiaren miaketak, ere zenbatu ziren. Lehenik, saguak ihes-kutxan jarri ziren minutu batez, gero labirintoaren erdian jarri ziren eta libreki arakatzen utzi zitzaien 4 minutuz, ihes-kaxa aurkitu arte. Emaitzak honela puntuatu ziren: 1) estrategiarik gabe: non ihes-kaxa ez zen aurkitu esplorazio-aldian; 2) ausazko estrategia: ihes-kaxa ausazko bilaketa baten ondoren aurkitu zen hainbat zuloren miaketa eta gero; 3) estrategia seriala: ihes-kaxa, atzera itzuli gabeko eta segidan kokaturiko zuloak esploratu ondoren aurkitu zen; estrategia espaziala: saguak, labirintoaren erditik, gelan sakabanaturiko ikusmen-pistak baliatuz ihes-kaxa aurkitzen duenean.
Portaera proba honetan lortutako emaitzei dagokienez, aipatzekoa da ezberdintasun esanguratsurik ez dela aurkitu hipokanpoko CB_1 hartzailea ezabatu ondoren saguek ihes-kaxa aurkitzeko erabilitako guztizko denboran ez emeetan ($p = 0.487$) edo arretan ($p = 0.059$) (5a.irudia); edota hauek egunean egindako akats kopuruan ez emeetan ($p = 0.357$) edota ezta ere arretan ($p = 0.064$) (5b.irudia).

5. irudia: Barnes-en labirintoan: a) Saguek egunean behar izan duten denbora totala (segundotan) saiakera guztiak burutzeko, **b)** Saguek ihes-kaxa bilatzerakoan izan dituzten akatsen kopurua, bai kontrol zen CRE birusa jaso duten ar eta emeetan. Esangura estatistikoa bi bideko ANOVA proben bidez aztertu zen. $p > 0.05$. Datu guztiak batezbestekoa ± S.E.M. gisa adierazten dira.



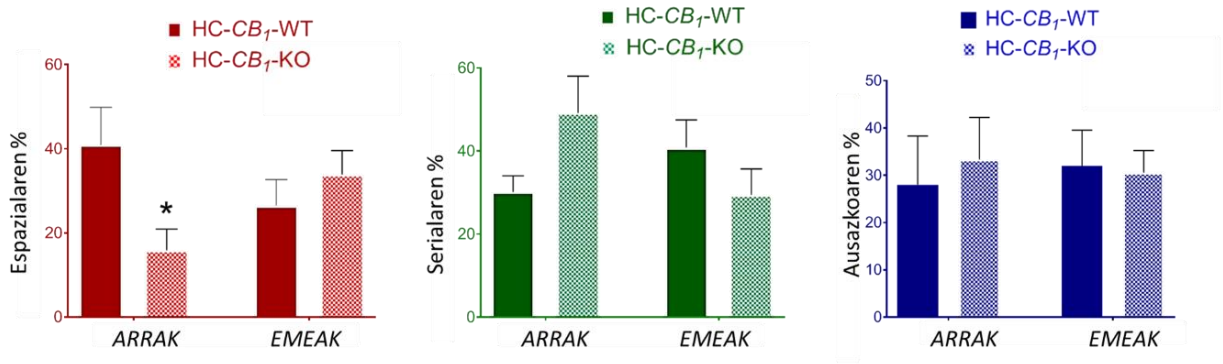
Horrela emeen kasuan, kontrol birusa jaso zuten horiek bataz beste, egun guztiak kontutan hartuta, 33.74 ±13.45 segundo behar izan zituzten bitartean, CRE birusa jaso zutenek, 31.04 ± 13.74 segundo behar izan zituzten bataz beste ihes-kaxa aurkitzeko. Arrei dagokionez, kontrol birusa jaso zutenek, egun guztiak

kontutan izanda, bataz beste 26.82 ± 8.42 segundo erabili zituzten ihes-kaxa aurkitzeko. CRE birusa jaso zuten arrek berriz, 34.18 ± 9.54 segundo erabili zituzten bataz beste ihes-kaxa aurkitzeko (5a. irudia).

Egunean eginiko akats kopuruari dagokionez, emeen kasuan, kontrol birusa jaso zutenek bataz beste, egun guztiak kontutan izanda, 12.03 ± 2.87 akats egin zituzten ihes-kaxa aurkitu aurretik. CRE birusa jaso zuten emeei dagokionez, 9.54 ± 2.03 akats egin zituzten zuzen aurkitu aurretik. Arrei dagokionez, kontrol birusa jaso zuten horiek, egun guztiak kontutan hartuta 9.93 ± 2.06 akats egin zituzten. CRE birusa jaso zuten arrek berriz, 12.5 ± 1.36 akats egin zituzten (5b. irudia).

Beste alde batetik erabilitako estrategia motetan bai aldaketak eman zirela CB_1 hartzailea ezabatu ondoren (6 irudia). Kontrol arrek estrategia espaziala (gorria) % 41 ± 8.85 erabili zuten eta CRE birusa jaso zuten sagu arrek aldiz % 15.83 ± 5.06 ($p = 0.033$; *). Emeei dagokionez, kontrol emeek % 26.5 ± 6.2 erabili zuten estrategia espaziala eta hartzailearen ezabapena daramaten emeek berriz % 33.89 ± 5.68 ($p = 0.400$). Estrategia serial eta ausazkoari dagokionez, ez zen aldaketa esanguratsurik aurkitu ar eta emeetan CB_1 hartzailearen ezabapena egin ondoren. Serialari dagokionez, kontrol arretan % 30.17 ± 3.87 izan zen eta hartzailerik gabeko horietan berriz % 49.17 ± 8.89 ($p = 0.078$). Emeei dagokionez, kontroletan estrategia serialaren erabilpena % 40.83 ± 6.67 suposatu zuen bitartean, hartzailea ezabatutako horietan % 29.44 ± 6.26 ($p = 0.241$). Azkenik, ausazko miaketari dagokionez, kontrol arretan honen erabilera % 28 ± 10.31 izan zen bitartean, CRE entzima zuten horietan % 33.33 ± 8.91 izan zen ($p = 0.703$). Emetan berriz, ausazko estrategiak kontroletan % 32 ± 7.55 izan zen eta CRE entzima zuten horietan % 30.56 ± 4.68 izan zen ($p = 0.874$) (6.irudia).

6. irudia: Barnes-en labirintoan estrategia ezberdinek (espaziala gorriz, seriala berdez eta ausazkoa urdinez) izan duten erabileraren portzentaiak, probak iraun duen egun guztietan zehar, bai kontrol zein CRE birusa jaso duten ar eta emeetan. Esangura estatistikoa Student T proba parametriko eta ez-parametrikoen bitartez aztertu ziren. * $p < 0.05$. Datu guztiak batezbestekoa ± S.E.M. gisa adierazten dira.



4. ONDORIOAK

Lan honetatik eratorri daitekeen ondorio nagusiena hipokanpoko neuronetan kokaturiko CB_1 hartzaileak, azterturiko ezagutza-oroimenen eta nabigazio prozesuetan duen partaidetza ezberdina dela ar eta emeen artean. Izan ere, honen ezabapenak, ondorio ezberdinak izan ditu bi sexuen artean.

Alde batetik, objektuen ezagutza proban, arretan hipokanpoko CB_1 hartzailea ezabatu ondoren, ezagutza-oroimena aztertzeko erabili den diskriminazio indizea guztiz kaltetuta dagoela ikusi da. Izan ere, sagu arrek ez zuten objektu familiarra ezagutu eta hau berria bezain beste esploratu zuten. Emeen kasuan, hartzailearen ezabapena jasan ondoren hipokanpoko neuronetan, ez zen diskriminazio indizean aldaketarik eman, objektu familiarra ezagutu eta berria gehiago esploratu zutelarik.

Bestalde, Barnes-en labirintoaren bidez azterturiko oroimen espazialean ez zen aldaketarik somatu ar zein emeetan hipokanpoko neuronetan CB_1 hartzailea ezabatu ondoren, izan ere, hauek egunean erabilitako bataz besteko denboran edota eginiko akats kopuruan ez da aldaketa esanguratsurik aurkitu. Hala ere, nabigazio prozesuetan ezberdintasunak aurkitu dira bi sexuen artean, saguek erabilitako nabigazio-estrategien

erabilera aldatu egin delako arretan baina ez emeetan, hartzailearen ezabapenaren ondorioz. Horrela ar arruntetan (HC-CB_1-WT) nagusia den nabigazio espazialaren erabilera (% 41) nabarmen jaitsi egin da CB_1 hartzailea ezabatutako saguetan (% 15). Aldiz, emeetan nagusia den estrategia seriala ez da esanguratsu jaitsi ezabatutako saguetan (% 29) kontrolekin alderatu ondoren (% 41).

Bukatzeko, ikerketa honetan aurkitu diren sexu-ezberdintasunen zergatia azaltzeko, lehenik eta behin, azpimarratzekoa da CB1 hartzaileen kontzentrazioa handiagoa dela arretan (Laurikainen eta lankideak, 2019). Honekin batera, jakinda mekanismo neuronalek eta hormonalek batera egiten dutela lan oroitzapenak sortzeko, eta karraskari emeetan endokannabinoideen sintesia ziklo-hormonalaren menpe dagoela (Borsoi eta lankideak, 2019), CB1 hartzailearen adierazpenean dauden sexu-araberako ezberdintasun hauek oroitzapenen sorkuntzan dauden ezberdintasunen oinarria izan daitezkeela uste da (Laurikainen eta lankideak, 2019). Hala ere, ECSren rola oroitzapenen sorkuntzan guztiz argi ez dagoenez, egindako esperimentuek CB1 hartzailearen banaketa dimorfikoaren inguruan ikuspegi zehatzagoa eman diezagukete.

5. ETORKIZUNERAKO NORABIDEA

Etorkizunera begira eta hipokanpoan CB_1 hartzailearen adierazpena beste zelula mota batzuetan ere ematen dela kontutan izanda bi norabide nagusi planteatu dira ikerketa honetan. Batetik, neuronen izaera ezberdina izan daitekeela kontuan izanda, kitzikatzaile edo inhibitzaileen artean ezberdintzea dugu helburu, oraindik zehatzago determinatu ahal izateko ar eta emeetan neuronetan CB_1 hartzaileak hipokanpoko prozesu hauetan duen eragina.

Bestetik, gliako zeluletan, hain zuzen ere, astrozitoak deritzen glia zeluletan, non arestian aipatu bezala hartzailearen adierazpena eta honen funtzioak deskribatu diren eragitea dugu helburu. Horrela, ar eta emeetan honek hipokanpoko prozesu hauetan izan dezakeen partaidetza determinatu ahal izateko.

6. ERREFERENTZIAK

Bach M.E., Hawkins R.D., Osman M., Kandel E.R., Mayford M. (1995): Impairment of spatial but not contextual memory in CaMKII mutant mice with a selective loss of hippocampal ltp in the range of the θ frequency. Cell. 81: 905-915.

Benard G., Massa F., Puente N., Lourenco J., Bellocchio L., Soria- Gómez E., Matias I., Delamarre A., Metna-Laurent M., Cannich A., Hebert-Chatelain E., Mulle C., Ortega-Gutiérrez S., Martín-Fontecha M., Klugmann M., Guggenhuber S., Lutz B., Gertsch J., Chaouloff F., López- Rodríguez M.L., Grandes P., Rossignol R., Marsicano G. (2012): Mitochondrial CB_1 receptors regulate neuronal energy metabolism. Nat. Neurosci. 15: 558-564.

Borsoi M, Manduca A, Bara A, Lassalle O, Pelissier-Alicot AL, Manzoni OJ. Sex Differences in the Behavioral and Synaptic Consequences of a Single in vivo Exposure to the Synthetic Cannabimimetic WIN55,212-2 at Puberty and Adulthood. Front Behav Neurosci. 2019 Mar 5;13:23

Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. Neuron. 2002 Aug 15;35(4):625-41.

Busquets-Garcia, A., Desprez, T., Metna-Laurent, M., Bellocchio, L., Marsicano, G., & Soria Gomez, E. (2015). Dissecting the cannabinergic control of behavior: The where matters. BioEssays, 37 (11), 1215–1225.

Castillo P.E., Younts T.J., Chávez A.E., Hashimotodani Y. (2012): Endocannabinoid signaling and synaptic function. Neuron. 76: 70-81.

Chevaleyre V. and Castillo P.E. (2004): Endocannabinoid-mediated metaplasticity in the hippocampus. Neuron. 43: 871-881.

Denninger JK, Smith BM, Kirby ED. Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. J Vis Exp. 2018 Nov 20;(141):10.3791/58593.

Devane W.A., Hanus L., Breuer A., Pertwee R.G., Stevenson L.A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R. (1992): Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. Science. 258: 1946-1949.

Di Marzo V., Stella N., Zimmer A. (2015): Endocannabinoid signalling and the deteriorating brain. Nat. Rev. Neurosci. 16: 30-42.

Gerdeman G., Lovinger D.M. (2001): CB_1 cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum. J. Neurophysiol. 85: 468-471.

Gutierrez-Rodriguez A., Bonilla-Del Rio I., Puente N., Gomez-Urquijo S.M., Fontaine C.J., Egana-Huguet J., Elezgarai I., Ruehle S., et al. (2018): Localization of the cannabinoid type-1 receptor in subcellular astrocyte compartments of mutant mouse hippocampus. Glia. 66 (7): 1417-1431.

Hebert-Chatelain E., Reguero L., Puente N., Lutz B., Chaouloff F., Rossignol R., Piazza P.V., Benard G., Grandes P., Marsicano G. (2014a): Cannabinoid control of brain bioenergetics: exploring the subcellular localization of the CB_1 receptor. Mol. Metab. 3: 495-504.

Howlett A.C., Barth F., Bonner T.I., Cabral G., Casellas P., Devane W.A., Felder C.C., Herkenham M., Mackie K., Martin B.R., et al. (2002). International union of pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoidreceptors. Pharmacol. Rev. 54. 161-202.

Hu S.S.J. and Mackie K. (2015): Distribution of the endocannabinoid system in the central nervous system. In: Pertwee R.G. editor. Handbook of Experimnental Pharmacology, Endocannabinoids. Berlin: Springer. 59-93.

Kano M., Ohno-Shosaku T., Hashimotodani Y., Uchigashima M., Watanabe M. (2009): Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. Physiol. Rev. 89: 309-380.

Laricchiuta D, Balsamo F, Fabrizio C, Panuccio A, Termine A, Petrosini L. CB_1 Activity Drives the Selection of Navigational Strategies: A Behavioral and c-Fos Immunoreactivity Study. Int J Mol Sci. 2020 Feb 6;21(3):1072.

Laurikainen H, Tuominen L, Tikka M, Merisaari H, Armio RL, Sormunen E, Borgan F, Veronese M, Howes O, Haaparanta-Solin M, Solin O, Hietala J; METSY group. Sex difference in brain CB1 receptor availability in man. Neuroimage. 2019 Jan 1;184:834-842.

Lu H.C. and Mackie K. (2016): An introduction to the endogenous cannabinoid system. Biol. Psychiatry. 79: 516-525.

Martin SJ, Morris RG. New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. Hippocampus. 2002;12(5):609-36.

Navarrete M. and Araque A. (2010). Endocannabinoids potentiate synaptic transmission through stimulation of astrocytes. Neuron. 68: 113-126.

Pertwee R.G., Howlett A.C., Abood M.E., Alexander S.P., di Marzo V., Elphick M.R., Greasley P.J., Hansen H.S., Kunos G., Mackie K. et al. (2010): International union of basic and clinical pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: Beyond CB_1 and CB_2. Pharmacol. Rev. 62: 588-631.

Puighermanal E., Marsicano G., Busquets-Garcia A., Lutz B., Maldonado R., Ozaita A. (2009): Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. Nature Neuroscience. 12: 1152-1158.

Rahman Q, Sharp J, McVeigh M, Ho ML. Sexual Orientation-Related Differences in Virtual Spatial Navigation and Spatial Search Strategies. Arch Sex Behav. 2017 Jul;46(5):1279-1294.

Rueda-Orozco P.E., Soria-Gomez E., Montes-Rodriguez C.J., Martínez-Vargas M., Galicia O., Navarro L., Prospero-García O. (2008): A potential function of endocannabinoids in the selection of a navigation strategy by rats. Psychopharmacology. 198: 565-576.

Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., Nakane S., Shinoda A., Itoh K., Yamashita A., Waku K. (1995): 2-arachidonoylgylcerol - A possible endogenous cannabinoid receptor-ligand in brain. Biochem. Biophys. Res. Commun. 215: 89-97.

RNA luze ez kodetzaileak hesteetako hanturazko gaixotasunean

Ane Olazagoitia-Garmendia[1,2,3], Maialen Sebastian-delaCruz[2,3], Leire Bergara-Muguruza[1], Henar Rojas-Márquez[2,3], Alain Huerta[3,4,5], Izortze Santin[1,3,6], Ainara Castellanos-Rubio[2,3,6,7]

[1]Biokimika eta Biologia Molekularra Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV-EHU), Leioa, [2]Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, [3]BioCruces Bizkaia Osasun Ikerketarako Institutoa, Barakaldo, [4]Medikuntza Saila, Euskal Herruko Unibertsitatea (UPV/EHU),Leioa, [5]Gastroenterologia Saila, Galdakao-Usansolo Ospitalea, Galdakao [6]CIBERDEM, Madril, [7]IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbo.
ane.olazagoitia@ehu.eus

Laburpena

Zitokinek eragindako hantura kronikoak gaixotasun konplexu desberdinak garatzeko arriskua areagotzen du, hala nola, hesteetako hanturazko gaixotasuna. Azken urtetako ikerketek hantura geneetan dauden aldaerek m^6A metilazioan duten parte-hartzea nabarmendu dute. Gainera, RNA luze ez kodetzaileek hanturazko gaixotasunen patogenian parte hartzen dute eta RNA metilazioak haien funtzioan eragin dezake. Hemen hesteetako hanturazko gaixotasunaren garapenean parte hartzen duen *LOC339803* RNA luze ez kodetzailearen azterketa funtzionala deskribatzen dugu. Orokorrean, gure emaitzek *LOC339803* hesteetako hanturaren bitartekari garrantzitsu gisa aurkezten dute eta RNA luze ez kodetzaile hau hesteetako hanturazko gaixotasuna tratatzeko balizko itu terapeutiko berri gisa aurkezten dugu.

Hitz gakoak: lncRNA, SNP, m^6A, hantura, HHG, RNA terapiak

Abstract

Cytokine mediated sustained inflammation increases the risk to develop different complex chronic inflammatory diseases, such as inflammatory bowel disease. Recent studies highlighted the involvement of inflammation associated gene variants in m^6A methylation. Moreover, long noncoding RNAs participate in the pathogenesis of inflammatory disorders and their function can be influenced by differential methylation. Here we describe the functional implication of LOC339803 long noncoding RNA in the development of inflammatory bowel disease. Overall, our results support LOC339803 as an important mediator of intestinal inflammation and we present this long noncoding RNA as a potential novel therapeutic target for the treatment of inflammatory bowel disease.

Keywords: lncRNA, SNP, m^6A, inflammation, IBD, RNA therapies

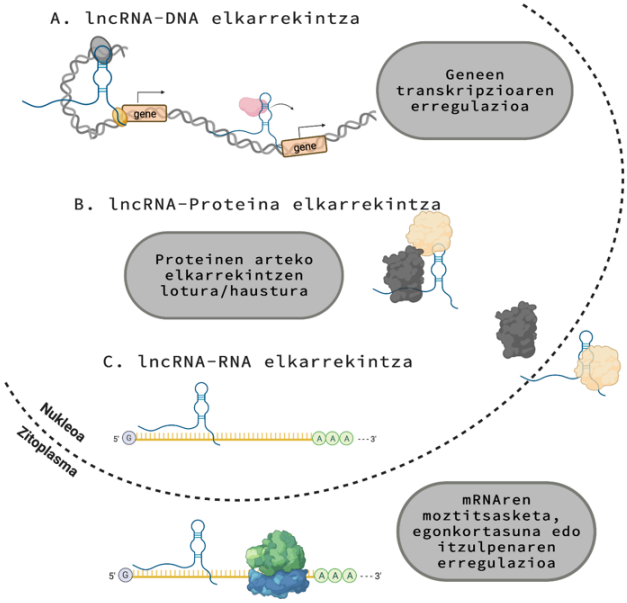
1. Sarrera eta motibazioa

Gaur egun, digestio-aparatuari lotutako hainbat hanturazko gaixotasun kroniko ezagunak dira eta hesteetako hanturazko gaixotasuna (HHG) da ohikoenetako bat (Camilleri et al., 2012). Eritasun honek bi gaitz hartzen ditu barnean: ultzeradun kolitisa (UK) eta Crohn gaitza (CG). HHGn, ingurumen-eragileen aurrean (infekzio birikoak, mikrobiotaren disbiosia, agente dietetikoak, etab.) zitokinen erantzun okerrak hantura kronikoa eta ehun osasuntsuen suntsitzea dakar. Hantura iraunkorrak sabeleko mina eta beherakoa eragiten ditu eta hesteetako baita hesteaz kanpoko konplikazio larriak ekar ditzake (Pascual et al., 2014; Rogler et al., 2021). Are gehiago, HHG duten pertsonek minbizia garatzeko arrisku handiagoa dute, batez ere koloneko minbizia (Axelrad et al., 2016; Muthusami et al., 2021; Shah eta Itzkowitz, 2022). HGG tratatzeko hainbat estrategia terapeutiko erabiltzen badira ere, botika mota desberdinak, kirurgia eta bizimodu aldaketak barne, ez dago gaixotasun honentzat sendabiderik. Hortaz, nabarmena da tratamendu eraginkor eta espezifikoagoen beharra dagoela (Cai et al., 2021).

Ingurumen-eragileez gain, faktore genetikoek ere gaixotasun hauen garapenean zeresan handia dutela identifikatu da. Genome Wide Association Studies (GWAS) eta Immunochip ikerketek patologia hauek garatzeko arriskua areagotzen dituzten eremuak identifikatzen lagundu dute. Hala

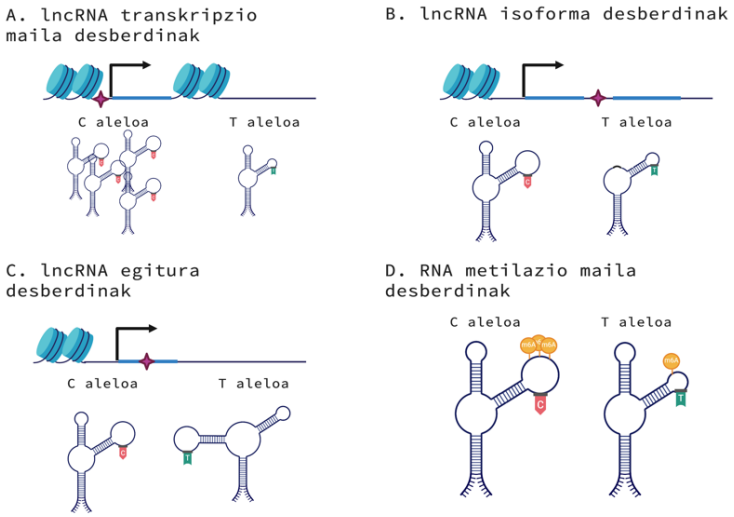
ere, aldaera hauek zein mekanismo biologikotan eragiten duten deskribatzeko lanak mugatua izaten jarraitzen du. Batez ere, asoziatutako aldaera hauek gehienbat eskualde genomiko ez kodetzaileetan kokatzen direlako (Jonkers eta Wijmenga, 2017; Ricaño-Ponce et al., 2016). Azken hamarkadan, RNA sekuentziatzeko tekniken aurrerapenek RNA ez kodetzaile berriak identifikatzen lagundu dute, eta kopuru handi bat RNA luze ez kodetzaile (long noncoding RNA edo lncRNA) familiari dagokio (Castellanos-Rubio eta Bilbao, 2018; Mowel et al., 2018). LncRNAk 200 nukleotido baino luzeagoak diren RNA molekulak dira, proteinak kodetzeko potentzialik ez dutenak. Hala ere, funtsezko prozesu zelularretan parte hartzen dute mekanismo desberdinen bidez; DNA, proteina eta beste RNA molekulei lotzeko gai baitira (1.Irudia). Gainera, lncRNAak kanpo estimuluei erantzuteko gai dira modu azkar eta zelula-mota espezifiko batean (Castellanos-Rubio eta Ghosh, 2019; Mowel et al., 2018; Robinson et al., 2020).

1. irudia. LncRNAek beste geneak modu desberdinetan erregulatu ditzakete, transkripzioan edo transkripzio osteko aldaketetan parte hartuz. **A)** LncRNA-DNA elkarrekintzak. LncRNAk kromatinara lotu daitezke bere egitura aldatzeko edo lokus espezifikoetan elementu erregulatzaileak erakarriz geneen adierazpena erregulatzeko. **B)** LncRNA-proteina elkarrekintzak. LncRNAk proteina konplexuen eraketa erraztu edo proteina-proteinen arteko elkarrekintzak eten ditzakete nukleoan zein zitoplasman. **C)** LncRNA-RNA elkarrekintzak. LncRNAak mRNAen metabolismoaren hainbat alderdi erregulatzeko gai dira, moztitsasketa, egonkortasuna edo itzulpena.



Interesgarria da hanturarekin lotutako nukleotido bakarreko polimorfismo (Single Nucleotide Polymorphism edo SNP) ugari lncRNA molekuletan kokatzen direla. Jakina da aldaera hauek lncRNA molekulen funtzioan modu desberdinetan eragin dezaketela; adibidez, adierazpen maila erregulatuz (2.A Irudia), lncRNA molekularen isoforma desberdinak bultzatuz (2.B Irudia) edota RNA molekularen egitura sekundarioa aldatuz (2.C Irudia) (Castellanos-Rubio eta Ghosh, 2019). Beste lan batzuek ere nabarmendu dute hanturarekin asoziatutako SNPek N^6-metiladenosina (m^6A) RNA aldaketan eragina izan dezaketela (Olazagoitia-Garmendia et al., 2021; Zhang et al., 2020), metilazio mailan eraginez (2.D Irudia). m^6A metilazioa mRNA eta RNA ez kodetzaileetan dagoen aldaketa kimiko ugariena da eta RNA molekulen metabolismoaren hainbat alderditan parte hartzen du, prozesu zelular askotan zeregin erabakigarria betetzen duelarik (Shulman eta Stern-Ginossar, 2020; Wang et al., 2017; Wei et al., 2017; Winkler et al., 2019). Hala ere, gutxi dakigu m^6A aldaketen ezaugarri genetikoei eta hauek gaixotasunetan duten zereginari buruz. Hanturarekin lotutako SNPen % 85 baino gehiago kodetzen ez diren eskualdeetan kokatuta daude eta hauen funtzioak ebaluatzeko zailak dira. Horregatik, ikuspegi berriak behar dira SNP ez kodetzaileen funtzio biologikoak argitzeko eta horrela gaixotasun konplexuen patogenesia hobeto ulertzeko.

2. irudia. SNP batek lncRNA molekulen erregulazioan eta funtzioan izan ditzakeen ondorioak. Izar moreek SNPak adierazten dituzte. **(A)** SNP bat lncRNA baten sustatzaile-eskualdean badago lncRNA molekularen transkripzio maila alda dezake, transkripzio-faktoreen lotura-guneak edo kromatinaren irisgarritasuna aldatuz. **(B)** LncRNA bateko SNP introniko batek lncRNA molekularen moztitsasketan eragin dezake, eta ondorioz, isoforma desberdinak era daitezke. **(C)** LncRNA baten sekuentzia exonikoan dagoen SNP batek bere egitura sekundarioa alda dezake. **(D)** m^6A motibo baten gertu dagoen SNP batek metilazio maila baldintzatu dezake, lncRNA molekularen egitura sekundarioan edota metilasa proteinen loturan eraginez.



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

HHGn kanpo eragileen aurrean zelula immuneak zein epitelialak aktibatu egiten dira eta zitokina eta hantura bitartekariak askatzen dituzte (Pascual et al., 2014; Rogler et al., 2021), baina prozesu hauetan parte hartzen duten mekanismoak ez dira guztiz ezagunak oraindik. Azken urteetako lan batzuek zenbait lncRNA HHGren patogenesiarekin lotu dituzte (Aklncllar et al., 2021; Elamir et al., 2022; Yarani et al., 2018) eta m^6A metilazioak HHGren garapenean ere parte hartu dezakeela iradoki dute (Lu et al., 2020; Sebastian-Delacruz et al., 2020; Zhang et al., 2022). Horregatik, hanturarekin lotutako SNPek lncRNA molekulen funtzioan duten papera deszifratzeak gaixotasun konplexu honen patogenia ulertzen lagun dezake. Gainera, aldaera hauen karakterizazio funtzionalaren azterketak m^6A metilazio-datuak integratuz landuz gero, gaixotasunari lotutako SNP espezifikoen efektu erregulatzaile berriak identifikatzea ekar dezake, eta hain beharrezkoak diren ikuspegi terapeutiko berrien garapenari ateak ireki.

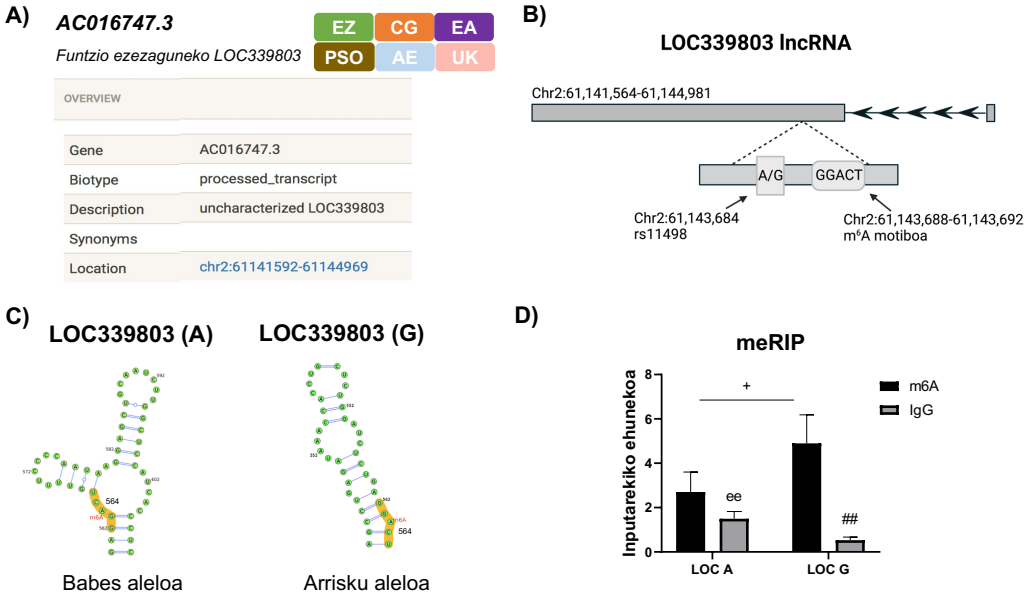
Lan honetan *LOC339803* lncRNA aztertu dugu, orain arte funtzio ezezaguna duena eta 2. kromosomako beso laburreko Immunochip eskualdean (2p15) kokatua dagoena. Eskualde hau hainbat hantura-gaitzekin lotuta dago, HHG barne. rs11498 SNPa m^6A motibo baten ondoan dago *LOC339803*ren exoi batean. Hortaz, lncRNA hau hautagai interesgarria da lncRNA molekulen funtzioan m^6A metilazio diferentzialak duen eragina aztertzeko hesteetako hantura testuinguruan. Horretarako, HCT-15 hesteetako lerro zelularra erabili dugu, SNP honentzat heterozigotoa dena, eta beraz, genotipoaren menpeko m^6A metilazio aldaketak aztertzeko aukera ematen duena. Gainera, HHG gaixo eta kontrolen hesteetako biopsiak ere aztertu ditugu geneen adierazpena analizatu eta zelula lerroetan lortutako emaitzak giza laginetan baieztatzeko.

3. Ikerketaren muina

3.1 rs11498 SNParen genotipoak *LOC339803* lncRNA molekularen metilazio maila eta hantura funtzioa baldintzatzen ditu

HHGri lotutako 2p15 Immunochip eskualdearen barruan rs11498 SNPa dago. Bertan aurkitzen da *LOC339803* (*AC016747.3* izenez ere ezaguna) lncRNA eta eskualde hau hantura-gaitz desberdinei asoziatuta dago, besteak beste, esklerosi anizkoitza (EA), psoriasia (PSO), artritis erreumatoidea (AE) eta HHG, Crohn gaitza eta ultzeradun kolitisa (CG eta UK hurrenez hurren) (3.A Irudia). Zehazki, *LOC339803* lncRNA molekularen exoi batean kokatzen da rs11498 SNPa, m^6A motibo batetik gertu (GG**A**CT) (3.B Irudia). RNA sekuentzian oinarriturik eta SRAMP "Sequence-based RNA Adenosine Methylation site Predictor" m^6A guneen iragarlea erabiliz (Zhou et al., 2016), SNParen ondoan dagoen m^6A motiboak metilatua izateko probabilitate handia duela ikusi genuen. Gainera, RNA egitura sekundarioa SNParen genotipoaren arabera aldatzen dela aurreikusten du, G aleloak egitura irisgarriagoa erakusten duelarik (3.C Irudia). Hortaz, G aleloa duen lncRNA molekulak metilatua izateko aukera handiagoa izan dezake. Iragarpen hauek baieztatzeko, HCT-15 hesteetako lerro zelularra erabili genuen, rs11498 SNParentzat heterozigotoa denez (AG genotipoa), metilazio maila alelo-espezifikoa kuantifikatzeko aukera ematen duelako zelula lagin berdinetik abiatuta. m^6Aren aurkako antigorputza edo kontrol negatibo bezala IgG antigorputza erabiliz, HCT-15 lerro zelularretik erauzitako RNAren immunoprezipitazioa burutu genuen; ondorioz, gure lagina metilatuak dauden RNA molekuletan aberastea lortzen da. Gero, RT-qPCR bidez kuantifikazio alelo-espezifikoa egin genuen, eta hala, baieztatu genuen G aleloa, egitura sekundario irisgarriagoa duena (1.C Irudia), metilatua dagoela (3.D irudia).

3. irudia. (A) Immunobase datu-basearen arabera (https://genetics.opentargets.org/immunobase) *LOC339803*ren (AC016747.3) asoziazioa hantura gaixotasun desberdinetara. Eritasun zeliakoa (EZ), Crohn gaitza (CG), esklerosi anizkoitza (EA), psoriasia (PSO), artritis erreumatoidea (AE), ultzeradun kolitisa (UK). **(B)** BioRenderrekin sortutako *LOC339803*ren kokapen kromosomikoaren irudikapen grafikoa. rs11498 Immunochip SNPa eta ondoan dagoen GGACT m^6A motiboa zoom bidez handituta. **(C)** SRAMP online programa erabiliz eskuratutako *LOC339803*ren irudikapen alelo espezifikoa. SNParen ondoan dagoen m^6A motiboa horiz markatuta. **(D)** *LOC339803*ren m^6A metilazio maila alelo espezifikoa RNA immunoprezipitazioaren bidez (methylated RNA immunoprecipitation edo meRIP) HCT-15 zeluletan. Datuak batez bestekoak ± batezbestekoaren errore estandarra (BEE) dira (n=4 esperimentu independente). p-balioa bi norabideko ANOVA probaren bidez. +p<0,1; IgG kontrolarekiko aberastea ee=ez esangarria, ##p<0,01.

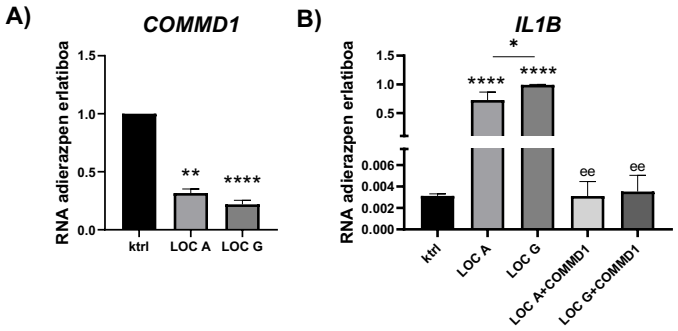


LncRNA molekulek sarritan inguruko geneen transkripzioa erregulatzen dute. Hori dela eta, *LOC339803* inguruan kokatutako eta hesteetako hanturarekin lotutako geneen adierazpena (*REL*, *PUS10*, *AHSA2* eta *COMMD1*) aztertu genuen lncRNA molekularen gainadierazpenaren ondoren. Aztertutako geneen artean, *LOC339803*ren gainadierazpenak *COMMD1*en adierazpena esangarriki gutxitzea dakarrela baieztatu genuen (4.A Irudia). *COMMD1*en errepresioa NFκB aktibazioarekin erlazionatuta dago (Maine eta Burstein, 2007), eta ondorioz, hesteetako hanturazko gaixotasunen

garapenarekin (Fernandez-Jimenez et al., 2014; Liu et al., 2017). NFκBk *IL1B* hanturazko zitokina induzitzen du eta HHGren funtsezko eragilea da. Hori dela eta, *LOC339803* bidezko *COMMD1* erregulazioak hantura eragiten duen ala ez argitzeko, *IL1B*ren adierazpena aztertu genuen eszenatoki honetan. *LOC339803*ren gainadierazpenak *IL1B*ren adierazpena areagotzen duela baieztatu genuen (4.B Irudia). Aldi berean, *COMMD1* gainadieraztean (NFκB bidezko hantura inhibitzeko), *IL1B*ren isilaraztea ikusi genuen (4.B Irudia). Emaitza hauek baieztatzen dute *LOC339803*ren indukzioak *IL1B* hantura zitokina emendatzen duela, eta gainera, *COMMD1*en errepresioaren bidez gertatzen dela erregulazio hau.

Bestalde, arrisku aleloaren aurrean (LOC G) *COMMD1*en adierazpen maila jaitsiera nabarmenagoa izan zen (4.A Irudia), eta ondorioz, *IL1B*ren adierazpena esangarriki handiagoa (4.B Irudia). Emaitza hauek erakusten dute arrisku aleloaren (LOC G) metilazio maila altuagoek nolabait *COMMD1* isilaraztea errazten duela, eta azkenean, *IL1B* hantura zitokinaren adierazpena are gehiago handitzea dakar.

4. irudia. (A) *COMMD1* RNA adierazpen maila erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta *LOC339803*ren bi gainadierazpen plasmidoekin (LOC A eta LOC G) transfektatutako zeluletan. Datuak batez bestekoak ± BEE dira (n=6 esperimentu independente). p-balioak bi isatseko Student t-testaren bidez. **(B)** *IL1B* zitokinaren RNA adierazpen maila erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta *LOC339803* bi forma (LOC A eta LOC G) eta *COMMD1* (LOC A + COMMD1 eta LOC G + COMMD1) gainadierazpen plasmidoekin transfektatutako zeluletan. Datuak batez bestekoak ± BEE dira (n=3 esperimentu independente). p balioak norabide bakarreko ANOVA probaren bidez. ee=ez esangarria, *p<0,05, **p<0,01, ****p<0,0001.



3.2 *LOC339803* adierazpen maila eta ur-beherako hantura geneak aldaratuak daude HHG gaixoetan

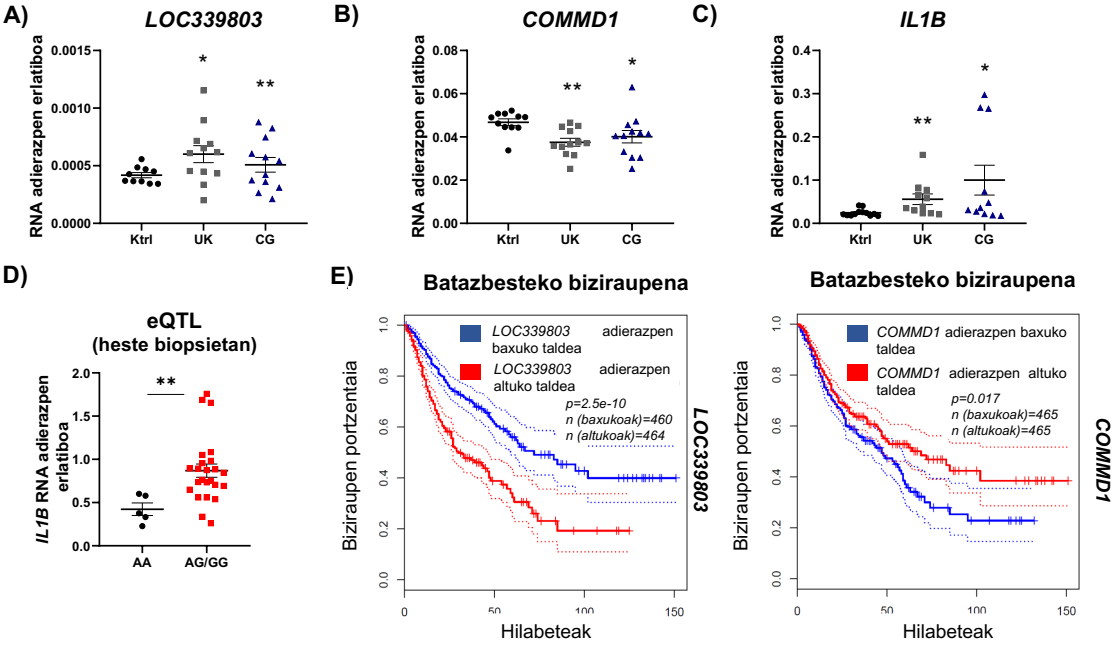
In vitro lortutako emaitzek adierazten zuten *LOC339803*ek HHGren patogenesian inplikazioa izan dezakeela. Horregatik, emaitza hauek giza pazienteen laginak erabiliz baieztatu nahi izan genituen. Horretarako, kontrolen eta pazienteen hesteetako biopsiak aztertu ziren HHGren bi azpimotak erabiliz (ultzeradun kolitisa eta Crohn gaitza).

Aurreko emaitzekin bat etorriz, HHG pazienteek *LOC339803* adierazpen maila areagotua eta *COMMD1* adierazpen maila murriztua dituzte (5.A, B Irudia). Gainera, HHG pazienteek *IL1B* adierazpena altuagoa dutela baieztatu genuen (5.C Irudia), hesteetako hantura areagotuaren seinale gisa. Horrez gain, ikusi genuen *LOC339803*ren arrisku aleloa duten pertsonek (GG homozigoto edota AG heterozigoto genotipoak) hesteetan *IL1B* maila nabarmen altuagoak dituztela (5.D Irudia), *LOC339803*k HHGn agertzen den hantura kronikoan duen inplikazioa berretsiz. Orora, HHG pazienteetan ditugun emaitzek baieztatzen dute gizabanako horietan dagoen hantura handitzea, neurri batean behintzat, *LOC339803*k eragindako *IL1B* mailen ondorio dela.

Azkenik, jakina da hantura kronikoak beste gaixotasunak garatzeko arriskua areagotzen duela, HHG pazienteetan hesteetako minbizia kasu. GEPIA "Gene Expression Profiling Interactive Analysis" web orriko (Tang et al., 2017) datuen azterketak *LOC339803* maila altuak dituzten pertsonek batezbesteko biziraupen txikiagoa dutela erakusten dute hesteetako zenbait minbizitan (4.E Irudia). Era berean, *COMMD1* maila baxuek ere gizabanako horien biziraupen orokorra murrizten dute (4.E Irudia). Giza

laginetako emaitza hauek erakusten dute *LOC339803*ren adierazpen maila altuak sortutako hanturak hesteetako minbizi bortitzagoak eragitea bultzatu dezakeela. Hortaz, *LOC339803*k eragindako hantura-bidearen erregulazio kontrolatua izatearen garrantzia azpimarratzen dute HHG pairatzen duten gaixoen hanturaren aurka babesteko.

5. irudia. (A) *LOC339803*, **(B)** *COMMD1* eta **(C)** *IL1B* geneen RNA adierazpen erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta kontrol (Ktrl) eta HHG pazienteetan: ultzeradun kolitisa (UK) eta Crohn gaitza (CG). **(D)** *IL1B* RNA adierazpen erlatiboa rs11498 SNParen genotipoaren arabera (eQTL), hesteetako laginetan babes aleloa (AA) eta arrisku aleloa (AG+GG) duten gizabanakoak alderatuz. Datuak batez bestekoak ± BEE (n≥5) dira. p-balio guztiak Mann-Whitney testaren bidez. *p<0,05, **p<0,01. **(E)** GEPIA web orritik eratorritako batezbesteko biziraupen grafikoak *LOC339803* (ezkerrean) edo *COMMD1* (eskubian) mailen arabera hesteetako minbizi desberdinetan (COAD=Koloneko adenokartzinoma; ESCA=Esofagoko kartzinoma; READ=Ondesteko adenokartzinoma; STAD = Urdaileko adenokartzinoma).



4. Ondorioak

Ikerketa honetan, lncRNA batean dagoen SNParen genotipoak m^6A metilazio mailak baldintzatzen dituela baieztatu dugu. Gainera, deskribatu dugu nola *COMMD1*en erregulazioaren bitartez *LOC339803*k *IL1B* hantura zitokina gakoaren adierazpena erregulatzeko gaitasuna duen. Horrez gain, HHG duten pazienteetan *LOC339803* adierazpen mailak aldaratuta daudela baieztatu dugu. Azkenik ikusi dugu rs11498 SNParen genotipoak *IL1B* zitokinaren adierazpen-mailetan eragiten duela; eta hortaz, arrisku aleloa duten pertsonek hantura kronikoa garatzeko arriskua handiagoa da.

Orokorrean, gure emaitzek erakusten dute m^6A metilazioa duen *LOC339803* lncRNAk *IL1B* zitokina areagotzen duela eta hanturarekin lotutako SNP baten ezaugarri funtzionala aurkezten dugu. Orohar, HHGren garapenean duen inplikazioa azaldu dugu eta esku-hartze terapeutiko berriei atea irekitzeko bide berri bat aurkezten dugu.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Azkenaldian, RNA molekuletan oinarritutako terapiekiko interesa areagotzen ari da, batez ere RNA txikietan eta mRNA txertoetan oinarritutakoak. LncRNA molekulen ugaritasuna eta giza gaixotasunetan duten inplikazioa kontuan hartuta, lncRNAak itu terapeutiko interesgarriak dira. Haien adierazpen-profil baxuak eta ehunen espezifikotasunak erakargarriak egiten dituzte, dosi baxuak beharko bait lirateke gaixotasunak tratatzeko (Mercer et al., 2022). Ikerketa honek

LOC339803 HHGrako itu terapeutiko gisa aurkezten du, izan ere, *LOC339803*ren isilarazpenak hanturazko erantzuna murrizten lagundu lezake. Hori dela eta, lncRNA molekularen funtzioa hausten duten molekula txikiak edo haien adierazpena murrizten duten oligonukleotidoak (antisense oligonucleotide edo ASO) erabiltzea estrategia onak dirudite lncRNA molekulei bideratutako terapietarako. Dagoeneko martxan dauden lncRNA terapietan oinarritutako entsegu kliniko ezberdinek gure emaitzak indartzen dituzte HHGren tratamendurako hain beharrezkoak diren terapia alternatiboak garatzeko abiapuntu gisa. Gainera, m^6A aldaketei zuzendutako beste terapia interesgarriak ere HHGren tratamendurako hautagai egokiak izan litezke, m^6Ari zuzendutako sendagai asko dagoeneko probatzen ari baitira (Deng et al., 2022).

6. Erreferentziak

Aklncllar, S. C., Wu, L., Ng, Q. F., Chua, J. Y. H., Unal, B., Noda, T., Chor, W. H. J., Ikawa, M., & Tergaonkar, V. (2021). NAIL: an evolutionarily conserved lncRNA essential for licensing coordinated activation of p38 and NFκB in colitis. *Gut*, *70*(10), 1857–1871. https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2020-322980

Axelrad, J. E., Lichtiger, S., & Yajnik, V. (2016). Inflammatory bowel disease and cancer: The role of inflammation, immunosuppression, and cancer treatment. *World Journal of Gastroenterology*, *22*(20), 4794. https://doi.org/10.3748/WJG.V22.I20.4794

Cai, Z., Wang, S., & Li, J. (2021). Treatment of Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *Frontiers in Medicine*, *8*, 765474. https://doi.org/10.3389/FMED.2021.765474/FULL

Camilleri, M., Madsen, K., Spiller, R., van Meerveld, B. G., & Verne, G. N. (2012). Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterology and Motility : The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, *24*(6), 503–512. https://doi.org/10.1111/J.1365-2982.2012.01921.X

Castellanos-Rubio, A., & Bilbao, J. R. (2018). Profiling Celiac Disease-Related Transcriptional Changes. In *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 336, pp. 149–174). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.07.003

Castellanos-Rubio, A., & Ghosh, S. (2019). Disease-associated SNPs in inflammation-related lncRNAs. *Frontiers in Immunology*, *10*(MAR), 1–9. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00420

Deng, L. J., Deng, W. Q., Fan, S. R., Chen, M. F., Qi, M., Lyu, W. Y., Qi, Q., Tiwari, A. K., Chen, J. X., Zhang, D. M., & Chen, Z. S. (2022). m6A modification: recent advances, anticancer targeted drug discovery and beyond. In *Molecular Cancer* (Vol. 21, Issue 1). https://doi.org/10.1186/s12943-022-01510-2

Elamir, A., Shaker, O., Kamal, M., Khalefa, A., Abdelwahed, M., Reheem, F. A. el, Ahmed, T., Hassan, E., & Ayoub, S. (2022). Expression profile of serum LncRNA THRIL and MiR-125b in inflammatory bowel disease. *PloS One*, *17*(10). https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0275267

Fernandez-jimenez, N., Castellanos-rubio, A., Plaza-izurieta, L., Irastorza, I., Elcoroaristizabal, X., Jauregi-miguel, A., Lopez-euba, T., Tutau, C., De pancorbo, M. M., Vitoria, J. C., & Bilbao, J. R. (2014). Coregulation and modulation of NFκB-related genes in celiac disease: Uncovered aspects of gut mucosal inflammation. *Human Molecular Genetics*. https://doi.org/10.1093/hmg/ddt520

Jonkers, I. H., & Wijmenga, C. (2017). Context-specific effects of genetic variants associated with autoimmune disease. In *Human Molecular Genetics* (Vol. 26, Issue R2). https://doi.org/10.1093/hmg/ddx254

Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF-κB signaling in inflammation. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 2). https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23

Lu, T. X., Zheng, Z., Zhang, L., Sun, H. L., Bissonnette, M., Huang, H., & He, C. (2020). A New Model of Spontaneous Colitis in Mice Induced by Deletion of an RNA m6A Methyltransferase Component METTL14 in T Cells. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, *10*(4), 747–761. https://doi.org/10.1016/J.JCMGH.2020.07.001

Maine, G. N., & Burstein, E. (2007). COMMD proteins and the control of the NFκB pathway. In *Cell Cycle* (Vol. 6, Issue 6). https://doi.org/10.4161/cc.6.6.3989

Mercer, T. R., Munro, T., & Mattick, J. S. (2022). The potential of long noncoding RNA therapies. In *Trends in Pharmacological Sciences* (Vol. 43, Issue 4). https://doi.org/10.1016/j.tips.2022.01.008

Mowel, W. K., Kotzin, J. J., McCright, S. J., Neal, V. D., & Henao-Mejia, J. (2018). Control of Immune Cell Homeostasis and Function by lncRNAs. In *Trends in Immunology* (Vol. 39, Issue 1, pp. 55–69). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.it.2017.08.009

Muthusami, S., Ramachandran, I. K., Babu, K. N., Krishnamoorthy, S., Guruswamy, A., Queimado, L., Chaudhuri, G., & Ramachandran, I. (2021). Role of Inflammation in the Development of Colorectal Cancer. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, *21*(1), 77–90. https://doi.org/10.2174/1871530320666200909092908

Olazagoitia-Garmendia, A., Zhang, L., Mera, P., Godbout, J. K., Sebastian-DelaCruz, M., Garcia-Santisteban, I., Mendoza, L. M., Huerta, A., Irastorza, I., Bhagat, G., Green, P. H., Herrero, L., Serra, D., Rodriguez, J. A., Verdu, E. F., He, C., Bilbao, J. R., & Castellanos-Rubio, A. (2021). Gluten-induced RNA methylation changes regulate intestinal inflammation via allele-specific XPO1 translation in epithelial cells. *Gut*, gutjnl-2020-322566. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322566

Pascual, V., Dieli-Crimi, R., López-Palacios, N., Bodas, A., Medrano, L. M., & Núñez, C. (2014). Inflammatory bowel disease and celiac disease: Overlaps and differences. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *20*(17), 4846. https://doi.org/10.3748/WJG.V20.I17.4846

Ricaño-Ponce, I., Zhernakova, D. V., Deelen, P., Luo, O., Li, X., Isaacs, A., Karjalainen, J., Di Tommaso, J., Borek, Z. A., Zorro, M. M., Gutierrez-Achury, J., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., van Meurs, J., Netea, M. G., Jonkers, I. H., Withoff, S., van Duijn, C. M., Li, Y., … BIOS consortium. (2016). Refined mapping of autoimmune disease associated genetic variants with gene expression suggests an important role for non-coding RNAs. *Journal of Autoimmunity*, *68*, 62–74. https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.01.002

Robinson, E. K., Covarrubias, S., & Carpenter, S. (2020). *The how and why of lncRNA function: An innate immune perspective*. *January*.

Rogler, G., Singh, A., Kavanaugh, A., & Rubin, D. T. (2021). Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management HHS Public Access. *Gastroenterology*, *161*(4), 1118–1132. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.07.042

Sebastian-Delacruz, M., Olazagoitia-Garmendia, A., Gonzalez-Moro, I., Santin, I., Garcia-Etxebarria, K., & Castellanos-Rubio, A. (2020). Implication of m6a mrna methylation in susceptibility to inflammatory bowel disease. *Epigenomes*, *4*(3). https://doi.org/10.3390/epigenomes4030016

Shah, S. C., & Itzkowitz, S. H. (2022). Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms and Management. *Gastroenterology*, *162*(3), 715-730.e3. https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2021.10.035

Shulman, Z., & Stern-Ginossar, N. (2020). The RNA modification N 6-methyladenosine as a novel regulator of the immune system. *Nature Immunology*, *21*(5), 501–512. https://doi.org/10.1038/s41590-020-0650-4

Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G., Li, C., & Zhang, Z. (2017). GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Research*, *45*(W1), W98–W102. https://doi.org/10.1093/NAR/GKX247

Wang, S., Sun, C., Li, J., Zhang, E., Ma, Z., Xu, W., Li, H., Qiu, M., Xu, Y., Xia, W., Xu, L., & Yin, R. (2017). Roles of RNA methylation by means of N6-methyladenosine (m6A) in human cancers. In *Cancer Letters* (Vol. 408). https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.08.030

Wei, W., Ji, X., Guo, X., & Ji, S. (2017). Regulatory Role of N6-methyladenosine (m6A) Methylation in RNA Processing and Human Diseases. *Journal of Cellular Biochemistry*, *118*(9). https://doi.org/10.1002/jcb.25967

Winkler, R., Gillis, E., Lasman, L., Safra, M., Geula, S., Soyris, C., Nachshon, A., Tai-Schmiedel, J., Friedman, N., Le-Trilling, V. T. K., Trilling, M., Mandelboim, M., Hanna, J. H., Schwartz, S., & Stern-Ginossar, N. (2019). m 6 A modification controls the innate immune response to infection by targeting type I interferons. *Nature Immunology*, *20*(2), 173–182. https://doi.org/10.1038/s41590-018-0275-z

Yarani, R., Mirza, A. H., Kaur, S., & Pociot, F. (2018). The emerging role of lncRNAs in inflammatory bowel disease. *Experimental & Molecular Medicine*, *50*(12), 161. https://doi.org/10.1038/S12276-018-0188-9

Zhang, T., Ding, C., Chen, H., Zhao, J., Chen, Z., Chen, B., Mao, K., Hao, Y., Roulis, M., Xu, H., Kluger, Y., Zou, Q., Ye, Y., Zhan, M., Flavell, R. A., & Li, H. B. (2022). m6A mRNA modification maintains colonic epithelial cell homeostasis via NF-κB-mediated antiapoptotic pathway. *Science Advances*, *8*(12). https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABL5723/SUPPL_FILE/SCIADV.ABL5723_SM.PDF

Zhang, Z., Luo, K., Zou, Z., Qiu, M., Tian, J., Sieh, L., Shi, H., Zou, Y., Wang, G., Morrison, J., Zhu, A. C., Qiao, M., Li, Z., Stephens, M., He, X., & He, C. (2020). Genetic analyses support the contribution of mRNA N6-methyladenosine (m6A) modification to human disease heritability. *Nature Genetics*, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41588-020-0644-z

Zhou, Y., Zeng, P., Li, Y. H., Zhang, Z., & Cui, Q. (2016). SRAMP: Prediction of mammalian N6-methyladenosine (m6A) sites based on sequence-derived features. *Nucleic Acids Research*, *44*(10). https://doi.org/10.1093/nar/gkw104

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau hurrengo ikerketa proiektuen bidez finantziatu da: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades PGC2018-097573-A-I00 (ACR), Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades PID2019-104475GA-I00 (IS), The European Foundation for the Study of Diabetes grant (EFSD)-EFSD/JDRF/Lilly Programme on Type 1 Diabetes Research (IS).

Psilozibinaren administrazio akutuaren eraginen ebaluazioa garun kortexean serotonina, noradrenalina eta dopamina mailak neurtuz: garun-mikrodialisiaren bidez burututako ikerlana esna dauden saguetan

Nerea Martínez-Álvarez[1], Inés Erkizia-Santamaria[1], Igor Horrillo[1,2,3], Jose Javier Meana[1,2,3], Jorge Emilio Ortega[1,2,3]

[1]Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU

[2]Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental CIBERSAM

[3]Biocruces Bizkaia Osasun Ikerketa Institutua

nerea.martineza@ehu.eus

Laburpena

Psilozibina eraginkortasun antidepresiboa duen haluzinatzaile naturala da. Bere ekintza mekanismoa nahiko ezezaguna da. Hori dela eta, lan honetan, psilozibinaren ekintza mekanismo akutua aztertu da monoamina maila estrazelularrak ebaluatuz, kortex frontalean egindako garun-mikrodialisia *in vivo* teknika erabiliz.

Erabilitako dosian, 1 mg/kg hain zuzen, ez da monoaminen kontzentrazioan aldaketa esanguratsurik ikusi eta, beraz, psilozibinaren ekintza antidepresiboak, egungo antidepresiboen kasuan ez bezala, ez du erlazio zuzenik kortex frontaleko monoaminen mailen igoerarekin.

Hitz gakoak: Psilozibina, depresioa, antidepresiboak, psikodelikoak.

Abstract

Psilocybin is a natural hallucinogenic compound that has been shown to have potential antidepressant effects. However, the mechanism of action is largely unknown. Therefore, in this study, we investigated the effect of psilocybin on the frontal cortex monoamine extracellular concentrations using in vivo brain microdialysis technique.

At the dose used (1 mg/kg), no significant changes in monoamine concentration were observed. This leads to the conclusion that the antidepressant mechanism of action of psilocybin, unlike current antidepressants, does not primarily involve an increase in extracellular monoamines in frontal cortex.

Keywords: Psilocybin, depression, antidepressants, psychedelics.

1. Sarrera eta motibazioa

Depresioa prebalentzia altuko gaixotasun mental larria da. Azken hamarkadan, gaixotasun horren intzidentzia etengabe hazi da (*GBD results*, 2022a), eta, gaur egun, gaixotasun mental ohikoena da (Erkizia-Santamaría et al., 2020). 2019. urtean, mundu-mailan, 280 milioi pertsona inguruk depresioa pairatu zutela kalkulatzen da; hau da, biztanleria osoaren %3,8a (*GBD results*, 2022b). Horrez gain, 2019az geroztik, SARS-CoV-2 birusak eragindako pandemiaren ondorioz, depresioaren prebalentziak %27,6ko igoera globala izan duela estimatzen da (COVID-19 Mental disorders Collaborators, 2021).

Depresioa desgaitasun kausa nagusia dela uste da (World Health Organization, 2021), pazienteen eguneroko bizitza nabari oztopa bailezake familia-, lan-, zein sozializazio-arloan, ohiko gaitasun eta energiarekin jardutea ekidinez. Gaitz hau ez da, beraz, gogo-aldartearen ohiko gorabeherekin nahastu behar, ezta eguneroko bizitzan ager daitezkeen arazoei emandako iraupen laburreko erantzun emozionalekin ere. Izan ere, aipatutako eragozpenez gain, depresioak eragindako gertakari larrienek pazientea bere buruaz-beste egitera eraman dezakete (Osasun Eskola, 2019).

Depresioaren prebalentzia altua eta ondorio larriak aipatzekoak badira ere, gaur egun bere etiopatologia nahiko ezezaguna da (Sequeira eta Fornaguera, 2009), eta hainbat aukera terapeutiko dauden arren, muga handiak dituzte (Benedí eta Romero, 2005). Hori dela eta, ekintza mekanismo ezberdinen bidez

eragiten duten farmako antidepresibo berriak garatzea ezinbestekoa da. Horretarako, depresioaren aurkako potentzial terapeutikoa duten substantzia oro, psilozibina besteak beste, arretaz aztertzeak berebiziko garrantzia du (Alshammari, 2020).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Azken hamarkadetan aurrerapauso handiak eman dira depresioaren teoria biologikoetan (Vazquez et al., 2000). Gaur egun, ezaguna da faktore anitz daudela depresioaren garapenean inplikatuta, eta ez dela zirkuitu neuroanatomiko bakar baten disfuntzioan oinarritzen. Emotibotasun, sari eta exekuzio funtzioetan inplikatutako zenbait garun gune ere identifikatu dira. Horietatik gehien ikasi direnak kortex frontala (FC), hipokanpoa, amigdala eta *nucleus accumbens* (NAc) izan dira (Sequeira eta Fornaguera, 2009).

Depresioaren tratamenduari dagokionez, serotoninaren birkaptazioaren inhibitzaileak (ISRS) dira orokorrean lehen aukera terapeutikoa (Osakidetza, 2017). Hala ere, klinikan erabilitako beste farmako antidepresibo gehienek, ISRSak kasu, monoaminen kontzentrazioa handitzen dute eragin akutu eta amankomun gisa, ekintza mekanismo ezberdinez baliatuz (Benedí eta Romero, 2017).

Farmako horiek, erabilgarriak diren arren, aintzat hartu beharreko 2-4 asteetako latentzia denbora aurkezten dute. Horrez gain, depresio nagusia duten pazienteen %37ak ez dio tratamendu antidepresiboari erantzuten 6-12 aste igarota, %53ak ez du erremisioa lortzen eta, gainera, farmakologikoki tratatutako pazienteen %63ak efektu desiragaitz bat pairatzen du gutxienez (Osakidetza, 2017).

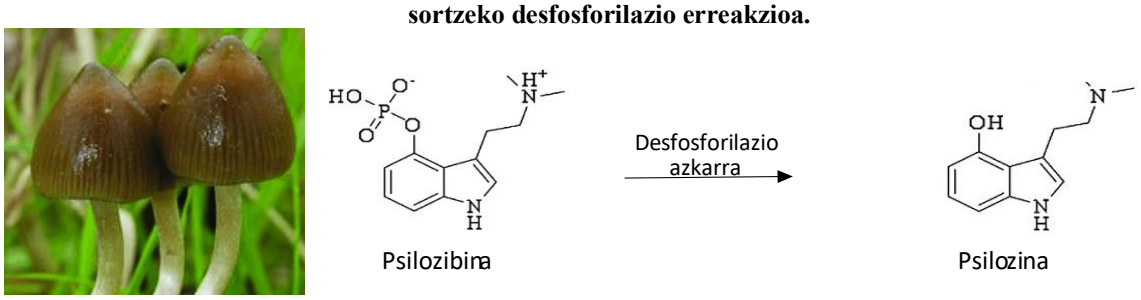
Terapia farmakologiko berrien beharrak ekintza mekanismo ezberdinen ikerketaz gain, psikiatria arloan iraganean oso erabiliak izan ziren substantziengan interesa berritu du, substantzia psikodelikoengan hain zuzen.

Psikodelikoak, 1940an azido lisergikoaren dietilamida (LSD) lehen aldiz sintetizatu zenetik, asko aztertu ziren psikiatria arloan, batez ere LSD, psilozibina eta meskalina. Psikodelikoen erabilera irrazional eta orokortuaren ondorioz, 1971an UN Drogei buruzko konbentzioan Kontrolpeko Substantzien Legearen I sailkapenean (*Schedule I, Controlled Substance Act*) sartu ziren. Ondorioz, psikodelikoen erabilera naiz preskripzio klinikoa guztiz debekatu ziren, eta ikerketa erabat eten. Hala ere, 40 urte igarota, berpiztu berri da psikodelikoen gaineko interesa (Sessa, 2012; United Nations, 1971; Rucker et al., 2018).

2006tik aurrera, desoreka psikiatriko ez psikotikoetan hainbat auzakotutako entsegu kliniko kontrolatu egin dira substantzia horiekin (batez ere psilozibinarekin). Depresioa ez da salbuespena, eta egungo literatura zientifikoan psilozibinaren eraginkortasuna depresioaren tratamenduan hainbat entsegutan ebaluatu da, eta aldeko emaitzak lortu dituzte (Carhart-Harris et al., 2016; Carhart-Harris et al., 2018; Griffiths et al., 2016; Ross et al., 2016; Goodwin et al., 2022). Are gehiago, berriki argitaratu den entsegu batean antidepresibo klasiko batekin konparatu zen, eszitalopram hain zuzen ere, eta psilozibinaren eraginkortasun antidepresiboa ISRS honekiko parekoa hala hobea izan zen (Carhart-Harris et al., 2021).

Psilozibina jatorri naturaleko alkaloide triptaminiko haluzinatzailea da. Hainbat onddo familiatan aurki daiteke, baina *Psilocybe* generoko onddoak dira potenteenak. Psilozibina hestean, plasman eta gibelean era inespezifikoan desfosforilatzen da, eta psilozina izeneko metabolito aktibo bilakatzen da (1.Irudia). Metabolito hau da zehazki efektu psikoaktiboaren eragile nagusia (Tyls et al., 2014).

1.Irudia. *Psilocybe semilanceata* (Copyright © 2012 Alan Rockefeller) onddoa eta psilozibinaren psilozina sortzeko desfosforilazio erreakzioa.



Farmakologiari dagokionez, hartzaile serotonergikoekiko dauka afinitate handiena, antzeko efektu psikoaktiboak dituzten gainerako drogek bezala, 5-HT1D,2A,2B,2C,5,6,7 hartzaileekiko zehatz mehatz (Geiger et al., 2018) Horiez guztiez gain, 5-HT1A,1B hartzaileekiko afinitate ertaina ere badauka, eta H1 hartzaile histaminergikoekin, D3 dopaminergikoekin eta α2A,2B adrenergikoekin ere elkarreragin dezake (Rickli et al., 2016; Erkizia-Santamaría et al., 2022).

Psilozibinaren farmakologia, beraz, oso konplexua da, eta nahiko ezezaguna oraindik. Gainera, depresioan eragin mesedegarriak dituela frogatu den arren, horiek sortzeko baliatzen duen ekintza mekanismoa ezezaguna da oraindik.

Hori dela eta, proiektu honen helburu orokorra psilozibinaren eragin akutuen ekintza mekanismoa aztertzea izan da. Gaurdaino depresioaren tratamenduan erabilitako farmako eraginkor gehienek sistema monoaminergikoan nolabaiteko eragina dutenez (Benedí eta Romero, 2005), psilozibinaren administrazio akutuak noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) eta dopamina (DA) mailetan duen inpaktua aztertu dugu. Horretarako, garun-mikrodialisia teknika erabili da, teknika honek garunean ematen diren aldaketa kimikoen monitorizazio jarraitua baimentzen baitu, substantzia endogenoak konpartimendu extrazelularretik laginduz.

3. Ikerketaren muina

3.1. Materialak eta metodoak

Ikerlan hau burutzeko, Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) abeltegian jasotako 26 C57BL/6 sagu ar erabili ziren. Animalien zaintza eta esperimentazio protokoloek Europar Batasunak (2010/63/EU) eta estatuko gobernuak (E.D. 53/2013) ikerkuntzarako animalien maneiurako ezarritako jarraibideak bete zituzten, eta Euskal Herriko Unibertsitateko Animaliekin egiten den Esperimentaziorako Etika Batzordeak (AEEB) onetsi zituen (CEEA: M20_2020_014). Gainera, horrek barne hartzen duen Russel eta Burch-ek (1959) proposatutako 3Ren (*Replacement, Reduction & Refinement*) metodologia aplikatu zen.

Saguak lau taldetan banatu ziren, jaso behar zuten tratamenduaren arabera: kontrol taldea, psilozibina taldea, MDL11939 (5-HT2A hartzaileen antagonista) taldea eta blokeo taldea (psilozibina + MDL11939). Talde bakoitzak jasotako tratamendua hau izan zen:

- Kontrol taldea: gatz-seruma (SS), bi ziztada (5 mL/kg bakoitza).
- Psilozibina taldea: psilozibina (1 mg/kg) lehenengo ziztadan eta SS (5 mL/kg) bigarrenean.
- MDL11939 taldea: MDL11939 (1 mg/kg) lehenengo ziztadan eta SS (5 mL/kg) bigarrenean.
- Blokeo taldea: MDL11939 (1 mg/kg) lehenengo ziztadan eta psilozibina (1 mg/kg) bigarrenean.

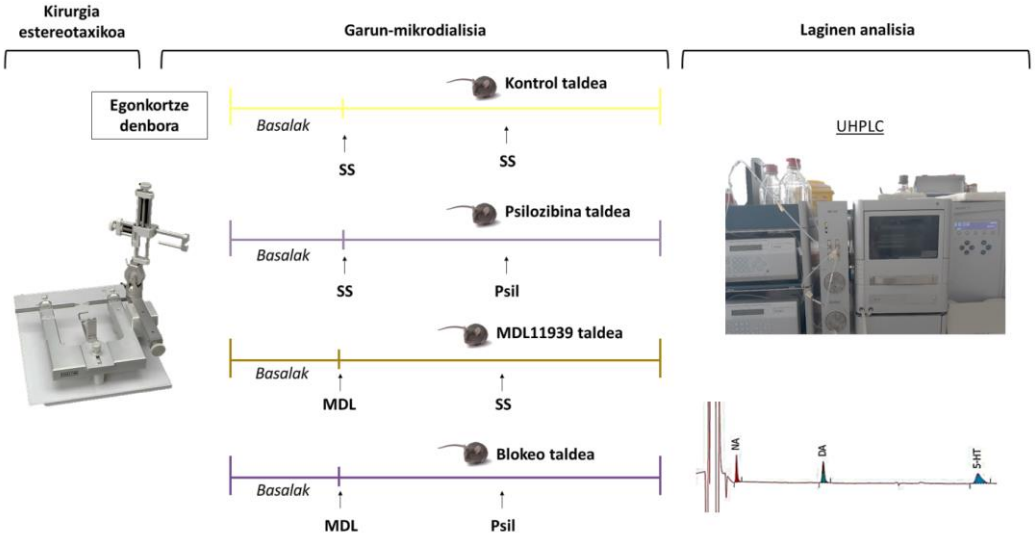
Sagu guztiek peritoneo barneko bi ziztada jaso zituzten, beraz: lehenengoa esperimentuaren 87,5. minutuan eta bigarrena 125. minutuan.

Kirurgia estereotaxikoaren bidez FCan UPV/EHUn eskuz egindako garun mikrodialisirako zunda zentrokideak ezarri zitzaizkien saguei. Mugimendu askea baimentzen zuen mikrodialisi ekipoan, monoaminarik gabeko likido zefalorrakideo (LZR) artifiziala perfunditu zitzaien saguei, 1,25 µL/minko fluxuan eta, bi ordutako egonkortze denbora igaro ostean, 12,5 minuturo bildu ziren laginak (kontserbatzaile gisa 0,1N HCl erabiliz).

Laginen analisirako zehaztapen handiko kromatografia likidoa erabili zen, detektagailu elektrokimikoari lotua (ALEXYS™ UHPLC). Lehen ziztada administratu baino lehen, 8 lagin jaso ziren saguen FCan monoaminen kontzentrazio estrazelular basalak ezartzeko. Taldeen arteko ezberdintasunak aztertzeko, berriz, 87,5. minututik 225. minutura lortutako balioekin kurba azpiko azalerak (AUC) kalkulatu ziren (2.Irudia).

Lortutako emaitzak, Graphpad PrisMTM IX (GraphPad Software, San Diego, CA, EEUU) programarekin aztertu ziren, bide bakarreko ANOVA, bi bidetako ANOVA eta Bonferroni *post-hoc* testa erabiliz. Lortutako emaitzen artean ezberdintasuna esanguratsua zela determinatzeko ezarritako p balioa $p<0,05$ izan zen.

2.Irudia. Esperimentuaren antolakuntza-diagrama: kirurgia estereotaxikoa, garun mikrodialisia (talde bakoitzak jasotako tratamendua zehaztuta) eta laginen analisia.

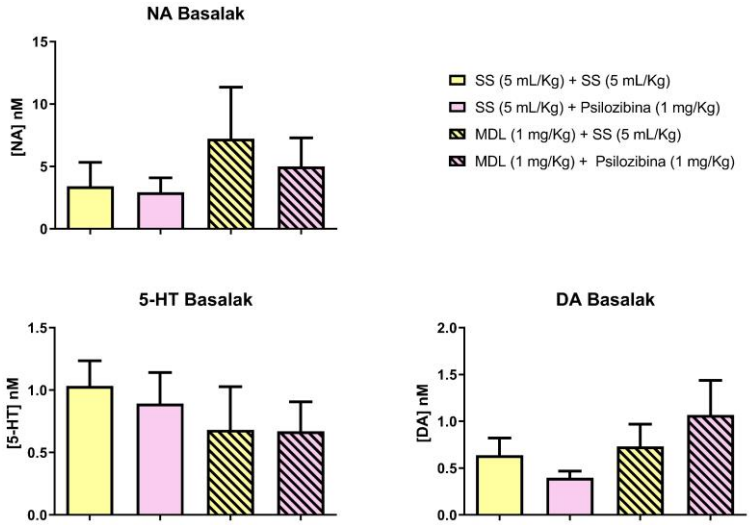


3.2. Emaitzak

Erabilitako animalien artean ezberdintasun esanguratsurik ez zegoela ziurtatzeko, lagin basalen NA, DA eta 5-HT mailak neurtu ziren administrazioaren aurretik, eta talde esperimentalak konparatu ziren bide bakarreko ANOVA erabiliz (3. Irudia).

- **NA.** NA maila basalen artean ez zen estatistikoki esanguratsua zen ezberdintasunik topatu psilozibina taldearen (2,928 ± 1,164 nM; n=5), MDL taldearen (7,237 ± 4,108 nM; n=4), MDL + psilozibina taldearen (5,003 ± 2,296 nM; n=7) eta kontrol taldearen (3,414 ± 1,912 nM; n=9) artean ($F[3,24]=0,532$; $p=0,665$).
- **DA.** DA maila basalen artean ere ez zen estatistikoki esanguratsua zen ezberdintasunik ikusi psilozibina taldearen (0,397 ± 0,071 nM; n=5), MDL taldearen (0,733 ± 0,236 nM; n=4), MDL + psilozibina taldearen (1,068 ± 0,369 nM; n=7) eta kontrol taldearen (0,639 ± 0,181 nM; n=7) artean ($F[3,22] = 1,137$; $p = 0,359$).
- **5-HT.** 5-HTren maila basalen kasuan ere ez zen estatistikoki esanguratsua zen ezberdintasunik behatu psilozibina taldea (0,892 ± 0,251 nM; n=4), MDLtaldea (0,682 ± 0,345 nM; n=3), MDL + psilozibin taldea (0,671 ± 0,236 nM; n=5) eta kontrol taldea (1,035 ± 0,201 nM; n=5) konparatzean ($F[3,16] = 0,533$; $p = 0,668$).

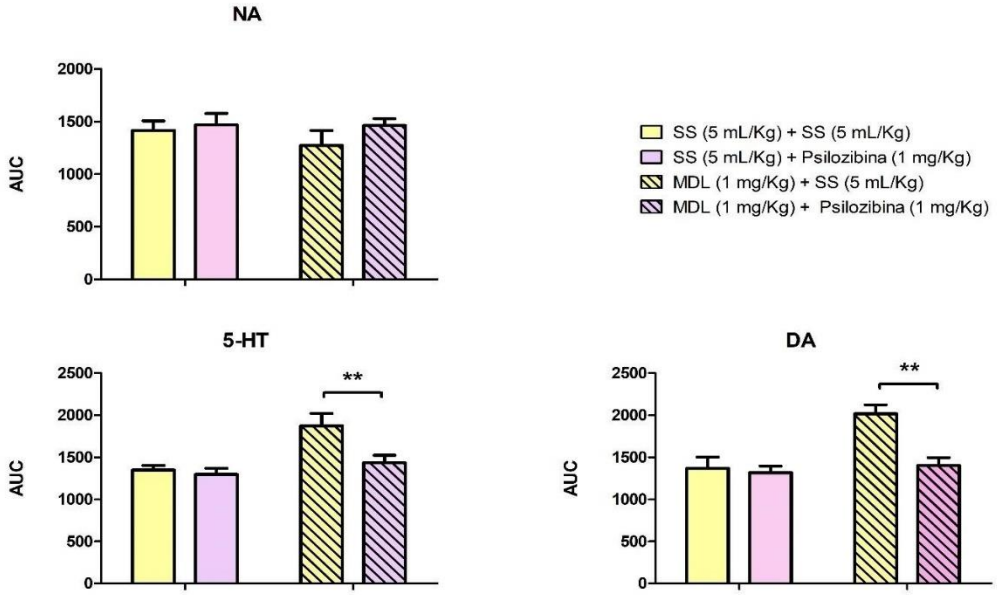
3.Irudia. FC-an kontrol, psilozibina, MDL11939 eta MDL11939 + psilozibina taldeetan neurtutako NA, DA eta 5-HT kontzentrazio estrazelular basalak (nM), hurrenez hurren, batazbestekoa ± SEM gisa adierazita eta p<0,05 esanguratasun baliotzat hartuta.



Peritoneo barnean emandako 1 mg/kg psilozibinak zuen eragina ebaluatzeko, FCan garun-mikrodialisiaren bidez monoamina maila estrazelularrak neurtu ziren, eta, ondoren, lau talde esperimentaletan denboran zehar lortutako monoamina bailoen kurbaren azpiko azalerak (AUC) konparatu ziren, jasotako tratamenduen (psilozibina edo/eta MLD11939) eragina aztertzeko. Lortutako emaitzak hauek izan ziren (4. Irudia):

- **NA.** Lau talde esperimentalak konparatzean, jasotako tratamenduak (psilozibina 1 mg/kg zein MDL11939 1 mg/kg, peritoneo barnean emanda) ez zuen estatistikoki esanguratsua zen aldaketarik eragin NA maila estrazelularretan ($F_{Psilo}[1,22]= 1,439$; $p= 0,245$; $F_{MDL}[1,22]= 0,509$; $p= 0,484$; $F_i[1,22]= 0,477$; $p= 0,498$).
- **DA.** Dopamina maila aztertzean, tratamenduak eragindako aldaketa estatistikoki esanguratsuak ikusi ziren, bai tratamendu bakoitza aztertzean bai horien arteko elkarreraginean ($F_{Psilo}[1,21]= 8,176$; $p= 0,010$; $F_{MDL}[1,21]= 9,986$; $p=0,005$; $F_i[1,21]= 5,869$; $p= 0,026$).
- **5-HT.** Aurreko kasuan bezala, estatistikoki esanguratsuak diren aldaketak ikusi ziren lau talde esperimentalak konparatzean, bai tratamendu bakoitza aztertzean eta baita horien arteko elkarreraginean ere ($F_{Psilo}[1,18]= 7,481$; $p=0,015$; $F_{MDL}[1,18]=13,430$; $p= 0,002$; $F_i[1,18]= 4,576$; $p=0,049$).

4.Irudia. Peritoneo barnetik emandako psilozibina 1 mg/kg duen eragina FCan neurtutako NA, DA eta 5-HT maila estrazelularretan, lau talde esperimentalen kurba azpiko azaleraren (AUC) batazbesteko balioak ± SEM moduan adierazita.



4. Ikerlanaren ondorioak

Psilozibinak, 1 mg/kg-ko dosian, ez du modu akutuan FCan monoamina maila aldaketa esanguratsurik eragiten. MDL11939ak (5-HT2A hartzaileen antagonista dena), ordea, DA eta 5-HT mailen igoera eragiten du eta, gainera, kontzentrazio aldaketa hauek lehenarazten ditu MDL11939ari jarraiki administratutako psilozibinak.

Psilozibinak, beraz, ez dauka egungo antidepresiboek duten monoaminen gaineko eragin akutu bera. Izan ere, gaur egun klinikan erabiltzen diren farmako antidepresiboek, eragina sortzeko 2-4 astetako latentzia denbora badute ere, modu akutuan monoaminen kontzentrazioa areagotzeko ahalmena dute FCan.

Guk erabilitako dosia, 1 mg/kg, aurretik egindako hainbat ikerlanetan sagu eta arratoietan eragin psikodelikoak zein antidepresibo atzeratuak eragiteko gai dela frogatu izan da (Halberstadt eta Geyer, 2013; Sakashita et al., 2015, Hibicke et al., 2020; Hesselgrave et al., 2021). Hori dela eta, lortutako

emaitzek psilozibina, era akutuan behintzat, erantzun hauek sortzeko ohiko bide monoaminergikoa ez den beste bide alternatibo bat pizteko gai dela pentsarazten digute.

5. Etorkizunerako norabidea

Psilozibinak, 1 mg/kg-ko dosian FCan monoaminen kontzentrazioan aldaketarik eragiteko gai ez bada ere, hainbat ikerlanetan frogatu da dosi altuagoek monoaminen maila estrazelularretan eragina badutela (Sakashita et al., 2015; Wojtas et al., 2022).

Dosi altuagoek sortutako eragin horretan 5-HT1A eta 5-HT2C hartzaileen partehartzea proposatu da, eta horiek eragin antidepresibo zein haluzinatzailean partehartzerik ez dutela uste izan den arren, psilozibinaren eragin neurokimiko akutuetan izan dezaketen rolari buruzko ideia bat ematen digute. Dosi altuagoak erabiltzea, beraz, interesgarria izan daiteke 5-HT1A eta 5-HT2C hartzaileen partehartzea aztertzeko. Izan ere, ikerlan berrienek, Erkizia-Santamaría et al. (2022)-ek argitaratutako ikerlana esaterako, psilozibinaren eragin akutuan, buruaren bapateko aztintzean (*head-twitch response*-HTR) eta hiper/hipotermian besteak beste, hartzaile horien inplikazioa azpimarrazten dute. HTR buruaren alde batetik besterako mugimendu rotazionala da, 5-HT2A hartzaileen aktibazioaren indikatzaile gisa onartu dena, eta gizakian eragin haluzinogenoa izango duen aurresateko froga gisa erabilgarria dena (Corne eta Pickering, 1967; Halberstadt eta Geyer, 2013).

Gainera, hemen aztertutako monoaminak ez ezik, glutamato (GLU) mailak neurtzea ere interesgarria liteke 1 mg/kg-ko dosian. Izan ere, dosi horrek, monoaminetan eragiten ez duen arren, HTR kopuru maximoa eragiteko gai dela jaso da literaturan. Eragin haluzinogenoa FCan GLU askatzearekin erlazionatuta egon zitekeela proposatu zuten Herian et al. (2019)-ek, eta, gainera, Muschamp et al. (2004) -ek burututako entseguetan, GLUren igoera 5-HT2A hartzaileekin erlazionatu zuten. Hori dela eta, etorkizunean GLU ere kontuan izatea komenigarria litzateke.

6. Erreferentziak

Alshammari, T. K. (2020). The ketamine antidepressant story: New insights. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *25*(23), 5777. https://doi.org/10.3390/molecules25235777

Benedí, J. eta Romero, C. (2005). Antidepresivos. *Farmacia profesional (Internet)*, *19*(10), 76–81. https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antidepresivos-13081504

Carhart-Harris, R., Giribaldi, B., Watts, R., Baker-Jones, M., Murphy-Beiner, A., Murphy, R., Martell, J., Blemings, A., et al. (2021). Trial of psilocybin versus escitalopram for depression. *The New England Journal of Medicine*, *384*(15), 1402–1411. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2032994

Carhart-Harris, R. L., Bolstridge, M., Day, C. M. J., Rucker, J., Watts, R., Erritzoe, D. E., Kaelen, M., et al. (2018). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: six-month followup. *Psychopharmacology*, *235*(2), 399–408. https://doi.org/10.1007/s00213-017-4771-x

Carhart-Harris, Robin L., Bolstridge, M., Rucker, J., Day, C. M. J., Erritzoe, D., Kaelen, M., et al. (2016). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *The Lancet. Psychiatry*, *3*(7), 619–627. https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30065-7

Corne, S. J., & Pickering, R. W. (1967). A possible correlation between drug-induced hallucinations in man and a behavioural response in mice. *Psychopharmacologia*, *11*(1), 65–78. https://doi.org/10.1007/bf00401509

COVID-19 Mental Disorders Collaborators. (2021). Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *Lancet*, *398*(10312), 1700–1712. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02143-7

Erkizia-Santamaría, I., Alles-Pascual, R., Horrillo, I., Meana, J. J., & Ortega, J. E. (2022). Serotonin 5-HT2A, 5HT2c and 5-HT1A receptor involvement in the acute effects of psilocybin in mice. In vitro

pharmacological profile and modulation of thermoregulation and head-twich response *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *154*(113612), 113612. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113612

Erkizia-Santamaria, I., Ortega, J. E., & Horrillo, I. (2020). Terapia antidepresiboaren azken pausoak: oraina eta geroa. *Osagaiz osasun-zientzien aldizkaria*, *4*(2). https://doi.org/10.26876/osagaiz.2.2020.311

GBD Results. Institute for Health Metrics and Evaluation. (2022a). https://vizhub.healthdata.org/gbdresults/?params=gbd-api-2019-permalink/d1e3cf597bd87387fdae2a35f9f94a8e

GBD Results. Institute for Health Metrics and Evaluation. (2022b). http://ghdx.healthdata.org/gbd-resultstool?params=gbd-api-2019-permalink/5f06569d2df7c5199efc4a5140a8655c

Geiger, H. A., Wurst, M. G., & Daniels, R. N. (2018). DARK classics in chemical neuroscience: Psilocybin. *ACS Chemical Neuroscience*, *9*(10), 2438–2447. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00186

Goodwin, G. M., Aaronson, S. T., Alvarez, O., Arden, P. C., Baker, A., Bennett, J. C., Bird, C., et al. (2022). Single-dose psilocybin for a treatment-resistant episode of major depression. *The New England Journal of Medicine*, *387*(18), 1637–1648. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2206443

Griffiths, R. R., Johnson, M. W., Carducci, M. A., Umbricht, A., Richards, W. A., Richards, B. D., Cosimano, M. P., & Klinedinst, M. A. (2016). Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *30*(12), 1181–1197. https://doi.org/10.1177/0269881116675513

Halberstadt, A. L., & Geyer, M. A. (2013). Characterization of the head-twitch response induced by hallucinogens in mice: detection of the behavior based on the dynamics of head movement. *Psychopharmacology*, *227*(4), 727–739. https://doi.org/10.1007/s00213-013-3006-z

Herian, M., Wojtas, A., Kamińska, K., Świt, P., Wach, A., & Gołembiowska, K. (2019). Hallucinogen-like action of the novel designer drug 25I-NBOMe and its effect on cortical neurotransmitters in rats. *Neurotoxicity Research*, *36*(1), 91–100. https://doi.org/10.1007/s12640-019-00033-x

Hesselgrave, N., Troppoli, T. A., Wulff, A. B., Cole, A. B., & Thompson, S. M. (2021). Harnessing psilocybin: antidepressant-like behavioral and synaptic actions of psilocybin are independent of 5-HT2R activation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *118*(17), e2022489118. https://doi.org/10.1073/pnas.2022489118

Hibicke, M., Landry, A. N., Kramer, H. M., Talman, Z. K., & Nichols, C. D. (2020). Psychedelics, but not ketamine, produce persistent antidepressant-like effects in a rodent experimental system for the study of depression. *ACS Chemical Neuroscience*, *11*(6), 864–871. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.9b00493

Muschamp, J. W., Regina, M. J., Hull, E. M., Winter, J. C., & Rabin, R. A. (2004). Lysergic acid diethylamide and [-]-2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine increase extracellular glutamate in rat prefrontal cortex. *Brain Research*, *1023*(1), 134–140. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.07.044

Osakidetza (2017). Tratamiento de la depresión en la atención primaria: cuándo y con qué. EAE: INFAC. https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/cevime_infac_2017/es_def/adjuntos/INFAC-Vol-25-n-1_antidepresivos.pdf

Osasun eskola (2019). *Depresioa.* Gipuzkoako Osasun mentalerako Sarea. https://www.osakidetza.euskadi.eus/osasun-mentala-gaixotasunak/-/depresioa/

Rickli, A., Moning, O. D., Hoener, M. C., & Liechti, M. E. (2016). Receptor interaction profiles of novel psychoactive tryptamines compared with classic hallucinogens. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *26*(8), 1327–1337. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.05.001

Ross, S., Bossis, A., Guss, J., Agin-Liebes, G., Malone, T., Cohen, B., Mennenga, S. E., Belser, A., Kalliontzi, K., Babb, J., Su, Z., Corby, P., & Schmidt, B. L. (2016). Rapid and sustained symptom reduction following psilocybin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *30*(12), 1165–1180. https://doi.org/10.1177/0269881116675512

Rucker, J. J. H., Iliff, J., & Nutt, D. J. (2018). Psychiatry & the psychedelic drugs. Past, present & future. *Neuropharmacology*, *142*, 200–218. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.040

Sakashita, Y., Abe, K., Katagiri, N., Kambe, T., Saitoh, T., Utsunomiya, I., Horiguchi, Y., & Taguchi, K. (2015). Effect of psilocin on extracellular dopamine and serotonin levels in the mesoaccumbens and mesocortical pathway in awake rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, *38*(1), 134–138. https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00315

Sequeira A. eta Fornaguera J. (2009). Neurobiología de la depresión. *Revista Mexicana de Neurociencia, 10* (6), 462-478. https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2009/rmn096j.pdf

Sessa, B. (2012). Shaping the renaissance of psychedelic research. *Lancet*, *380*(9838), 200–201. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60600-X

Tylš, F., Páleníček, T., & Horáček, J. (2014). Psilocybin--summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *24*(3), 342–356. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.12.006

United Nations. (1971). Convention on psychotropic substances. https://www.unodc.org/pdf/convention_1971_en.pdf

Vázquez, F. L., Muñoz, R. F., Becoña, E. (2000). Depresión: diagnóstico, modelos teóricos y tratamiento a finales del siglo XX. *Psicología conductual, 8* (3), 417-449. https://www.behavioralpsycho.com/wpcontent/uploads/2020/04/02.Vazquez_8-3oa-1.pdf

World Health Organization (2021). *Depresión.* Geneva: World Health Organization c2020. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression

Wojtas, A., Bysiek, A., Wawrzczak-Bargiela, A., Szych, Z., Majcher-Maślanka, I., Herian, M., Maćkowiak, M., & Gołembiowska, K. (2022). Effect of psilocybin and ketamine on brain neurotransmitters, glutamate receptors, DNA and rat behavior. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(12), 6713. https://doi.org/10.3390/ijms23126713

7. Eskerrak eta aipamenak

Ikerketa hau ikerketa-gaietan hasi nahi duten unibertsitateko ikasleentzat Ikasiker lankidetza-bekari eta Eusko Jaurlaritzaren Ikertzaileak prestazteko doktoretza-aurreko bekari (PRE_2022_1_0256) esker burutu da. Horrez gain, ikerlan hau MCIN/AEI/10.13039750110001103 3 finantziatutako PID2021-123508OB-I00 proiektuari esker burutu da.

Gertuko biotinilazioa E2F7 transkripzio faktorearen interaktoma deskribatzeko estrategia gisa: TurboID sistemaren garapena

Ekaitz Madariaga[1], James D. Sutherland[2], Jone Mitxelena[1,3] eta Ana M. Zubiaga[1]

[1]Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU, [2]Center for Cooperative Research in Biosciences (CICbioGUNE), Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, [3]IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao.

ekaitz.madariaga@ehu.eus

Laburpena

E2F transkripzio faktoreek (E2F1-8) prozesu biologiko eta gaixotasun ugaritan parte hartzen dute. E2F7ri dagokionez, bere funtzio nagusia geneen adierazpena erreprimitzea dela deskribatu dugu, baina bere ekintza-mekanismoa ezagutzeke dago. Lan honetan, E2F7ren interaktoreak aztertzeko TurboID biotina ligasaren bidezko proteinen gertuko biotinilazio-sistema baten garapena deskribatzen dugu. Horretarako, TurboID-E2F7 ekoizten duten zelula-lerro egonkorrak garatu ditugu. Gure datuek berretsi dute TurboID-E2F7 fusio-proteina zelulen nukleoan kokatzen dela batik bat, E2F7 proteina basatia bezala. Aldiz, bere interaktoreak zitoplasman zein nukleoan daudela ikusi dugu. Gainera, lan honetan garatu den estrategia E2F7ren interaktoreak identifikatzeko sistema baliagarria dela frogatu dugu.

Hitz gakoak: E2F7, interaktoma, proteinen gertuko biotinilazioa, TurboID.

Abstract

E2F transcription factors (E2F1-8) play an important role in several biological processes and diseases. Regarding E2F7, we have shown that its main role is to repress expression of protein- and microRNA-coding genes, but little is known about its mechanism. In this work, we describe the development of a proximity biotinylation approach based on the TurboID biotin ligase in order to study E2F7 interactors. With this aim, we generated stable cell lines that express TurboID-E2F7 in response to doxycycline. Our data confirm that TurboID-E2F7 localizes mainly in the nucleus, similarly to the wild-type E2F7, and describe the presence of E2F7 interactors in both the nucleus and the cytoplasm. In addition, we show that the TurboID strategy is suitable for identification of E2F7 interactors.

Keywords: E2F7, interactome, proximity biotinylation, TurboID.

1. Sarrera eta motibazioa

Ziklo zelularra zelulen hazkuntza eta proliferazioa kontrolatzen duen prozesu konplexua da. Ziklo zelularraren disfuntzioak minbizia eta bestelako patologia latzen sorrera ekar dezake eta, beraz, modu zorrotzean erregulatuta egon behar da. Zikloaren garapena puntu zehatzetan konprobatzen da (ingelesezko *checkpoint*-etan), ziklo zelularraren progresio egokia bermatzen dutenak. Zikloaren proteina erregulatzaile nagusien artean, E2F transkripzio faktoreak daude (Kent eta Leone, 2019; Rubin et al., 2020). E2F faktoreek arautzen duten bidezidorrak ia minbizi mota guztietan mutatuta daude, hala nola bularreko, birikako eta prostatako minbizietan, eta kasu guztietan E2Fren menpeko geneen erregulazioa galduta dagoela ikusi da (Hamidi et al., 2022; Kent eta Leone, 2019).
E2F familia zortzi genez (*E2F1-8*) osatuta dago eta, besteak beste, DNAren bikoizketan eta ziklo zelularraren garapenean parte hartzen duten geneen adierazpena kontrolatzen dute (Hamidi et al., 2022; Kent eta Leone, 2019; Mitxelena et al., 2018). E2F transkripzio faktore guztiek sekuentzia-homologia oso altua dute, batez ere DNAri batzeko domeinuan (DBD). Hala ere, E2F proteina bakoitzak bere elementu bereizgarriak izan ditzake, eta horren arabera bi talde nagusitan banatu daitezke: E2F klasikoak (E2F1-6) eta E2F atipikoak (E2F7-8) (de Bruin et al., 2003; Lammens et al., 2009).

Bi talde hauen ezberdintasun nagusia DBD bakarraren (E2F klasikoen kasuan) edo bi DBDren presentzian (E2F atipikoetan) oinarritzen da. Horretaz gain, E2F1-5 kideek erretinoblastoma familiako (RB) proteinekin elkarrekiteko transaktibazio domeinu bat dute haien sekuentzian. E2Fak RB proteinarekin batera haien itu-geneen promotoreetara lotuta daude, bi proteina hauen

arteko elkarrekintzak E2Fen aktibitatea ekiditen duelarik. Ziklo zelularrean zehar RBn gertatutako itzulpen-osteko eraldaketek RB-E2F elkarrekintza apurtzea eragiten dute. Horren ondorioz, E2F faktoreek gene ugarien adierazpena induzitzeko gaitasuna eskuratzen dute, DNAren bikoizketa eta zikloaren progresioa sustatzen duten funtsezko geneena bereziki (Kent eta Leone, 2019).

E2F transkripzio faktoreak hainbat proteinekin lotzen dira beraien itu-geneen adierazpena erregulatzeko. E2F klasikoek haien transaktibazio domeinua erabiltzen dute kromatina-eraldatze konplexu ezberdinak gene ituetara bideratzeko, hauek konplexu aktibatzaileak (kromatinaren "irekiera" eragiten dutenak) edo errepresoreak (kromatinaren kondentsazioa bideratzen dutenak) izan daitezkeelarik. E2F atipikoak, aldiz, gene adierazpenaren erregulatzaile negatibo moduan deskribatu dira orokorrean, baina haien ekintza-mekanismoaren zehaztasunak gutxi ezagutzen dira. Beraz, E2F transkripzio faktoreek zelulen prozesu anitzetan parte hartzen dutela kontuan hartuta E2F atipikoen ekintza-mekanismoa ezagutzeak berebiziko garrantzia du.

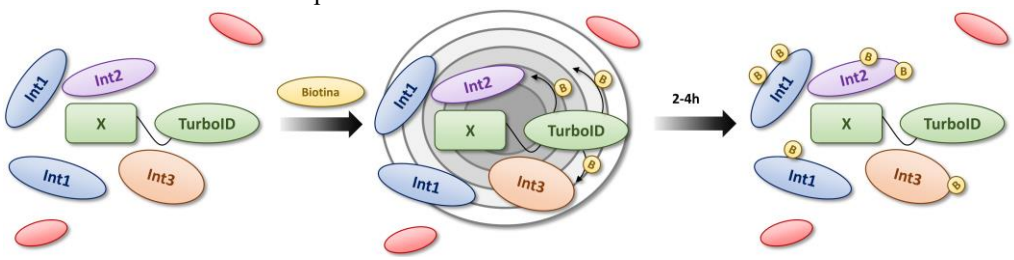
2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

E2F atipikoek ez dute transaktibazio domeinurik, eta beraz, gene adierazpenaren erregulazioan bestelako mekanismoak erabiltzen dituztela proposatu da. Ikerketa batzuek E2F7ren eta CTBP proteinen (CTBP1 eta CTBP2, *c-terminal binding protein*) arteko interakzioa deskribatu dute (Liu et al., 2013; Zhao et al., 2014). CTBP proteinek transkripzioaren errepresioa bideratzen dute erreklutatzen dituzten histona-eraldatzaile konplexuen bitartez, eta E2F7k burututako erregulazio genikoaren bitartekari gisa proposatu dira (Liu et al., 2013; Zhao et al., 2014).

E2F7ren ekintza-mekanismoa ezagutzeko nahian, afinitatezko-purifikazioa eta masa-espektrometria konbinatzen dituen estrategia proteomikoak burutu dira aurretik (Liu et al., 2013). Afinitatezko-purifikazioa eta masa-espektrometria bidezko identifikazioa proteinen interaktomak (proteina batekin elkarrekiten duen proteina multzoa) aztertzeko ohiko prozedura da, eta nahiz eta emaitza baliagarriak eman, baditu bere mugak. Askotan ikergai den proteinaren eta bere interaktoreen arteko elkarrekintza oso ahula edo denbora laburretan gertatzen da, eta maiz afinitate-prozesuan zehar galtzen dira. Honek E2F7ren interaktoreen identifikazioan eragin zuzena izan dezake, ziklo-zelularrean zehar gertatzen diren elkarrekintzak prozesu zehatzetan modu dinamikoan ematen baitira.
Hala, arazo hauek gainditzeko estrategia ezberdinak garatu dira azkenengo urteetan, eta hauen artean proteinen gertuko biotinilazioa dago. Sistema honetan interesezko proteina biotina ligasa batekin fusionatzen da, zeinak, biotinilazio deritzon prozesuan bere inguruko proteinei biotina taldeak gehitzen dien (Kimmel et al., 2022). Horrela, interesezko proteinaren interaktoreak biotinaz markatuko dira, eta espezifikoki purifikatu ostean, masa-espektrometriaz identifika daitezke (1. irudia). Urteetan zehar biotina ligasa ezberdinak erabili dira eta sintetikoki eraldatu dira haien aktibitate-denbora murrizteko. Aldaketa hauen emaitza TurboID izeneko biotina ligasa izan da (Branon et al., 2018). Entzima honek bere inguruko proteinak denbora laburretan (2-4 ordu) biotinilatzen ditu, eta, beraz, TurboID prozesu dinamiko eta laburretan inplikatuta dauden proteinak identifikatzeko erreminta moduan erabili daiteke (Cho et al., 2020).

E2F transkripzio faktoreek zelulen oinarrizko prozesuak erregulatzen dituzte eta gaixotasun ezberdinen garapenean parte har dezakete. Horregatik, proteina hauen ekintza-mekanismoa ezagutzea garrantzitsua da. Lan honen helburu nagusia TurboID biotina ligasaren bidezko E2F7 proteinaren interaktoreak identifikatzeko estrategia garatzea da, zelula-lerroaren ekoizpenetik sistemaren funtzionamendu egokia frogatu arte.

1. Irudia: TurboID estrategiaren funtzionamendu eskematikoa. X itu-proteinak bere interaktore (int) ezberdinekin elkarrekiten du, eta biotina gehitzean, X proteinari lotuta dagoen TurboID biotina ligasak inguruko proteinei biotina-taldeak gehituko die 2-4 orduz. Biotinilatutako proteinak espezifikoki purifikatu eta masa-espektrometria bidez identifika daitezke.



3. Ikerketaren muina

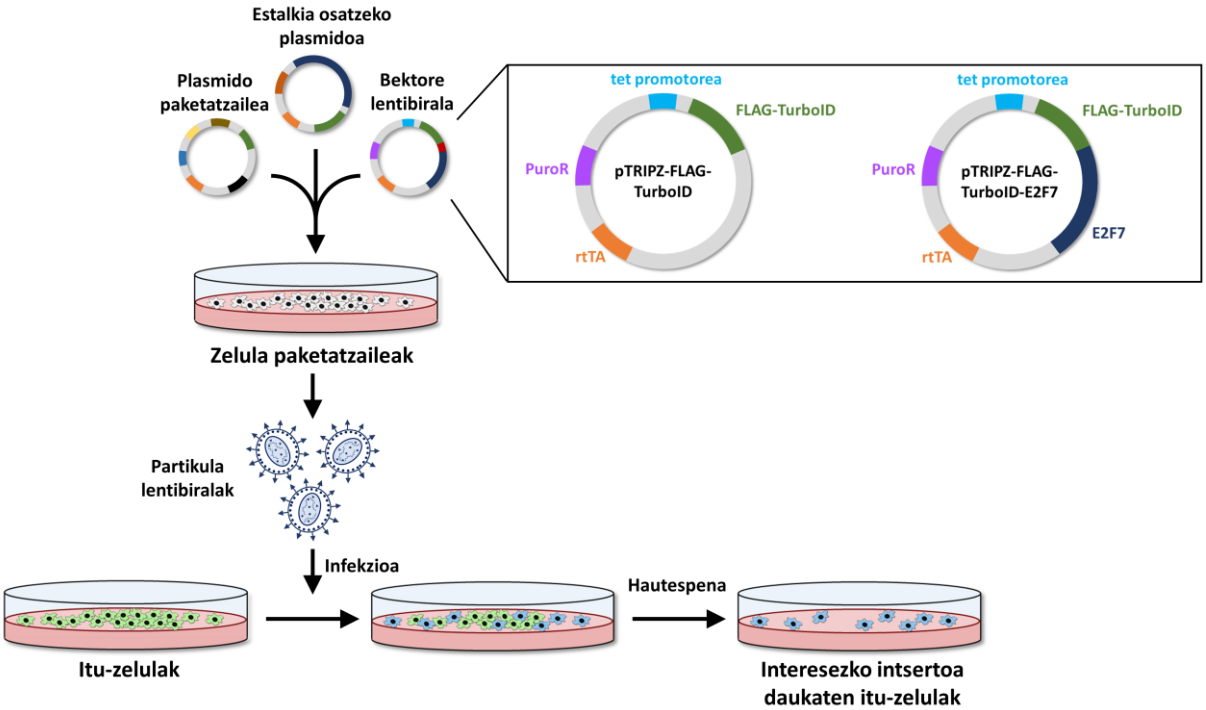
3.1. TurboID zelula egonkorren lorpena lentibirusak erabiliz

Lan honetarako U2OS osteosarkoma zelulak erabiltzea erabaki da, U2OS zelula-lerroaren erabilera ziklo zelularraren eta E2Fen biologia aztertzeko oso hedatua baita.

Ikerketa honetan, interesezko proteina eraldatuak adierazteko U2OS zelula-lerro egonkorrak ekoiztu dira. Horretarako lentibirusak erabili dira, ostalariaren genoman haien karga genetikoa txertatzen duten erretrobirus mota bat. Urteetan zehar biologia molekularrean lentibirus eraldatuak erabili dira gene exogenoak interesezko organismoetan txertatzeko (Milone eta O'Doherty, 2018). Birus hauen manipulazioan biosegurtasuna bermatzeko, birus ez-erreplikatiboak eratzeko behar diren osagai guztiak bi plasmido ezberdinetan kodetuta daude (hots, plasmido paketatzailea eta estalkia osatzeko plasmidoa). Plasmido hauek interesezko proteina kodetzen duen bektore lentibiralarekin (pTRIPZ) batera HEK293-FT zelula paketatzaileetan transfektatzen dira. Zelula paketatzaileak birusaren elementu guztiak ekoiztuko ditu, eta konstruktua daramaten birusak haien medio zelularrera askatuko dituzte. Beraz, medio zelular hau itu-zelulei (U2OS zelulei) gehitu dakieke infekzioa gerta dadin. pTRIPZ bektoreak, interesezko sekuentziaz gain puromizinaren aurkako erresistentzia genea ere kodetzen duenez, infektatutako zelulak, eta beraz, interesezko sekuentzia integratu duten zelulak hautesteko, puromizina antibiotikoa erabili daiteke (2. irudia).

Sistema lentibiral hau erabilita bi zelula-lerro ezberdin ekoiztu ziren. Lehenengoan, E2F7ren sekuentzia kodetzailea FLAG etiketarekin markatutako TurboID proteinarekin batera fusionatu da (FLAG-TurboID-E2F7). Zelula hauek E2F7rekin elkarreragiten duten proteinak identifikatzeko erabiliko da. Beste zelulek, soilik FLAGekin markatutako TurboID entzima adierazten dute (FLAG-TurboID), eta sistemaren kontrol negatibo moduan erabiliko dira; hau da, TurboID entzimak bere kabuz modu inespezifikoan biotinaz markatzen dituen proteinen informazioa emango dute.

2. irudia. Plasmidoen egitura eta zelula-lerroen lorpena. Interesezko proteina kodetzen duen bektore lentibirala lentibirusa ekoizteko behar diren elementuak kodetzen dituen plasmido paketatzailearekin eta estalkia osatzeko plasmidoarekin batera transfektatzen dira zelula paketatzaileetan (HEK293-FT). Zelula hauek haien medio zelularrera askatuko dituzte interesezko genea daukaten lentibirusak. Lentibirusak dituen medio zelularra itu-zelulak (U2OS zelulak) infektatzeko erabiltzen da, eta interesezko genea itu-zeluletan integratu dela ziurtatzeko puromizina antibiotikoa gehitzen da hautespena burutzeko. PuroR: Puromizinaren aurkako erresistentzia-genea. rtTA: Doxiziklinaren menpeko alderantzizko proteina transaktibatzailea.



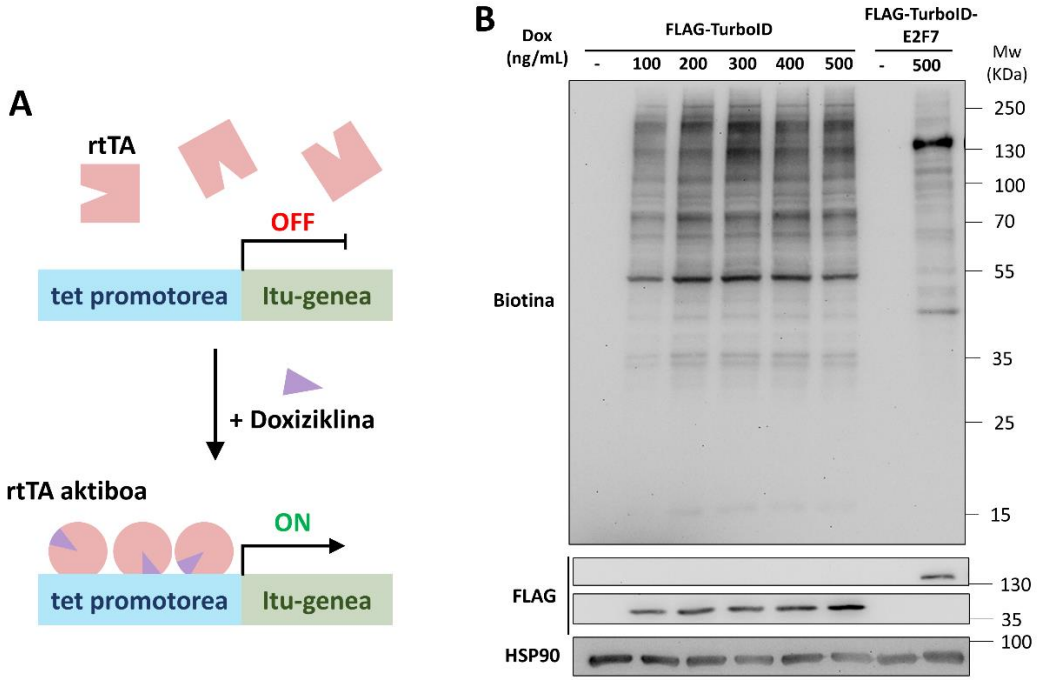
3.2. FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 proteinen adierazpena eta hauek burututako biotinilazioa modu induzigarrian gertatzen da

pTRIPZ bektore lentibiralak, interesezko proteinaren sekuentzia kodetzaileaz eta puromizinaren aurkako erresistentziaz (PuroR) gain, konstruktuaren adierazpena induzitzeko elementuak ere baditu. Izan ere, interesezko genearen adierazpena tet-on sistemaren bidezkoa da. Sistema honetan, interesezko genearen adierazpena doxiziklinaren menpekoa den promotore baten bidez erregulatuta dago. Egoera basalean, rtTA proteina ez da gai tet promotorera lotzeko, baina tetraziklina familiako antibiotikoak gehitzean (doxiziklina, kasu), tetraziklina rtTAra lotzen da, bere konformazioa aldatuz. Konformazio aldaketa honek rtTA aktibatzen du, promotorera lotzea ahalbidetuz eta itu-proteinaren adierazpena induzituz (3a. irudia).

Behin FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 zelula-lerroak ekoiztuta, interesezko proteinak modu induzigarrian ekoizten zituzten frogatu zen. Horretarako, FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 zelulak doxiziklina kontzentrazio eta inkubazio-denbora ezberdinekin tratatu eta proteina erauzi zen. Ikerketa-taldean burututako froga ezberdinek FLAG-TurboID-E2F7 lerroan doxiziklina tratamendu egokiena 10 ordukoa (500 ng/mL-ko kontzentrazioan) dela adierazi dute (3b. irudia eta erakutsi gabeko datuak). FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 sistemak konparagarriak izateko, antzeko biotinilazio-maila aurkeztu behar dute. Hala, FLAG-TurboID zelulei doxiziklina kontzentrazio ezberdinak gehitu zitzaizkien 10 orduz. Proteina eta biotinilazio-maila Western plapaketa bitartez konprobatu zen (3b. irudia). Diseinatutako konstruktuak FLAG etiketarekin markatuta daudenez, haien adierazpen egokia FLAG etiketaren aurkako antigorputza erabilita konprobatu zen.

FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 proteinak soilik doxiziklina gehitutako baldintzetan adierazten dira, beraz, adierazpena modu induzigarrian ematen da doxiziklinaren menpe (3b. irudia). Bestalde, doxiziklina kantitatearen handipenak biotinilazio-maila areagotzen du FLAG-TurboID zeluletan, seinale maximoa 300 ng/mL-ko baldintza izanik. FLAG-TurboID-E2F7ren biotinilazio-profilarekin konparatuta, FLAG-TurboIDren kasuan baldintza antzekoena 100 ng/mL da. Hau horrela, lan honetan burututako hurrengo esperimentuetan FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 zelulentzat 100 ng/mL-ko eta 500 ng/mL-ko doxiziklina kontzentrazioak erabiltzea erabaki da, hurrenez hurren.

3. irudia. FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 proteinen adierazpena eta biotinilizazioa doxiziklinak aktibatutako tet-on sistemaren bitartez induzitu daitezke. (A) tet-on sistemaren funtzionamenduaren eskema. Egoera basalean (doxiziklinaren gabezian), konstitutiboki ekoizten den rtTA proteina ezin da tet promotorera batu. Doxiziklina edo bestelako tetraziklinak gehitzean rtTAk konformazioz aldatzen du eta tet promotorera batzen da, itu-genearen adierazpena induzituz. (B) Doxiziklinak FLAG-TurboID (40 KDa) eta FLAG-TurboID-E2F7 (150 KDa) proteinen adierazpena eta hauek burututako biotinilizazioa induzitzen du. Biotina 50 µM 2 orduz eta doxiziklina 10 orduz gehitu zen adierazitako kontzentrazioetan.

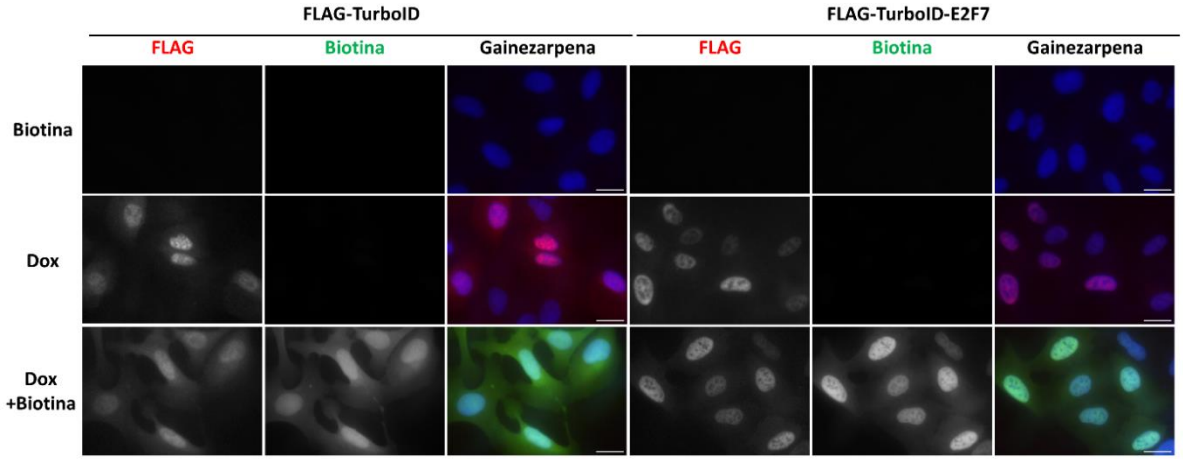


3.3. FLAG-TurboID-E2F7 nukleoan kokatzen da eta bereziki nukleoko proteinak biotinilatzen ditu

Behin interesezko proteinen adierazpena induzitu zitekeela konprobatu zelarik, FLAG-TurboID-E2F7ren kokapen azpizelularra aztertu zen. E2F7 nagusiki nukleoan kokatzen den proteina bat izanda, FLAG-TurboID proteina-fusioak E2F7ren kokapena aldatzen ez duen frogatzeko fluoreszentziazko entseguak burutu ziren. Horretarako, U2OS FLAG-TurboID edo FLAG-TurboID-E2F7 zelulak biotinarekin, doxiziklinarekin edo bien konbinazioarekin tratatu ziren eta, horren ostean, formaldehidoarekin fixatu ziren. Gainadierazitako proteina FLAG-aren aurkako antigorputzaren bidez detektatu zen, eta biotina, berriz, estraptabidina-FITCren bidez. Estreptabidinak biotina modu espezifikoan ezagutzen du, eta FITC fluoroforoarekin konjugatuta dagoenez zuzenean detektatu daiteke fluoreszentzia-mikroskopioan (seinale berdea). Anti-FLAG antigorputzaren seinalea ikustarazteko anti-sagu-AlexaFluor594 (Invitrogen) antigorputza erabili zen (seinale gorria). Mikroskopiorako muntaketa egiteko eta nukleoak tindatzeko VectaShield-DAPI (VectorLabs) erabili zen eta laginak Leica DMI 6000B fluoreszentzia-mikroskopio bidez aztertu ziren.

Immunofluoreszentiazko irudiek, aurretik burututako western plapaketa moduan, FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 proteinen adierazpena soilik doxiziklina gehitutako baldintzetan gertatzen dela erakutsi zuten. FLAG-TurboID-E2F7 proteina batez ere nukleoan kokatzen da, FLAG-TurboID, aldiz, zelula osoan zehar banatzen da (4. irudia). Biotinaren seinaleari dagokionez, biotinilazioa soilik doxiziklina eta biotina gehitutako baldintzan ikustarazi zen, TurboID entzimaren aktibitatea biotina exogenoaren gehipenaren menpekoa dela adieraziz. Gainera, biotinaren seinaleak FLAG seinalearen antzeko banaketa jarraitzen du. Hala ere, FLAG-TurboID-E2F7ren biotinilazioa gehien bat nukleoan gertatzen den arren, zitoplasman seinale berdea ere ikus daiteke. Honek adierazi lezake E2F7k nukleoko proteinekin elkarreragiteaz gain, zelulako beste konpartimentuko proteinekin ere elkartu daitekeela.

4. irudia. FLAG-TurboID, FLAG-TurboID-E2F7 eta biotinilatutako proteinen kokapen azpizelularra. FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 zelulak adierazitako baldintzetan doxiziklinarekin (Dox) 10 orduz tratatu ziren 100 ng/mL eta 500 ng/mL kontzentrazioetan, hurrenez hurren. Biotina 50 µM kontzentrazioan 2 orduz gehitu zen. Gainadierazitako proteinak anti-FLAG antigorputzaren bidez (F1804, Sigma Aldrich, seinale gorria) detektatu ziren. Biotina detektatzeko, estreptabidina-FITC erabili zen (554060, BD biosciences, seinale berdea). Nukleoa DAPI erabilita ikustarazi zen (fluoreszentzia urdina). Eskala-barra: 20 µm.



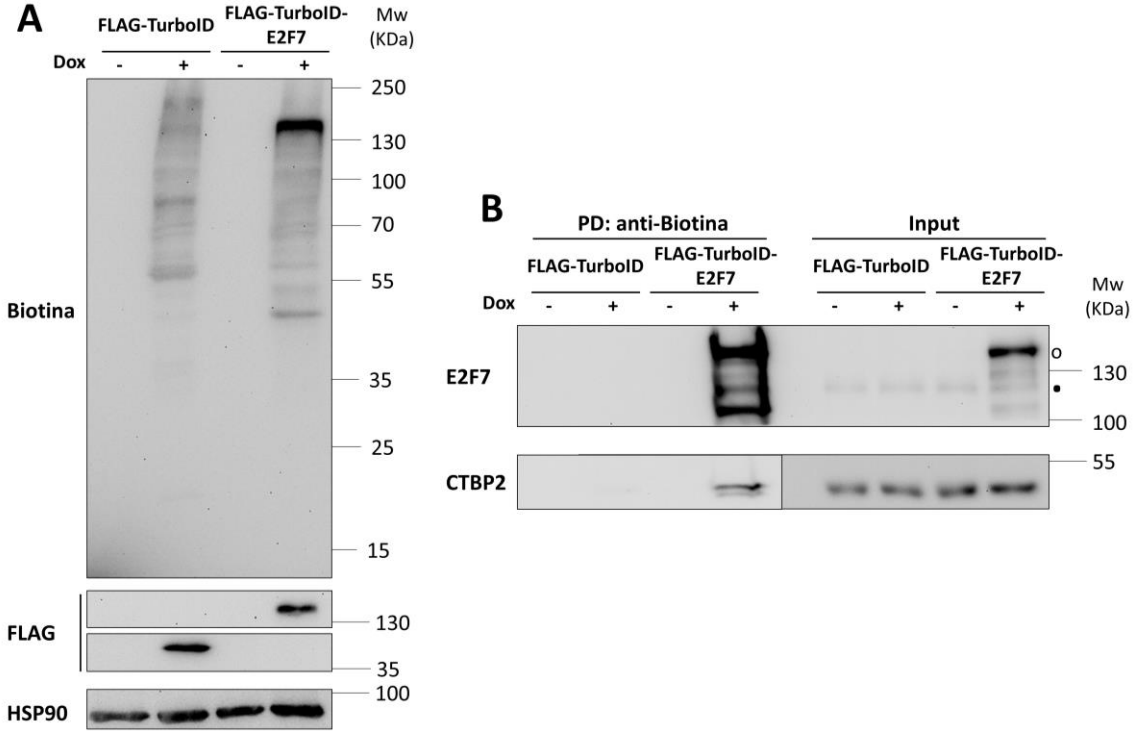
3.4. TurboID sistema egokia da E2F7ren interaktoreak detektatzeko

Behin FLAG-TurboID-E2F7 proteinaren kokapen zelularra egiaztatuta, ekoiztutako proteinen gertuko biotinilazio-sistemaren egokitasuna frogatu zen. Horretarako, FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 zeluletan biotinilatutako proteinak purifikatu eta E2F7ren interaktore ezagunak diren CTBP1/2 proteinen presentzia aztertu zen. Hala, zelula-lerro bakoitzaren lau 15 cm-tako plaka erein ziren. Hauetako biri doxiziklina gehitu zitzaien 10 orduz (100 ng/mL-tan FLAG-TurboIDrentzat eta 500 ng/mL FLAG-TurboID-E2F7rentzat), eta plaka guztiei biotina (50 µM) gehitu zitzaien proteina erauzi baino 2 ordu lehenago.

Proteinak 8 M urea eta %1 SDS (PBStan) disoluzioan erauzi ziren. Lisatuen biskositatea sonikazio bitartez murriztu eta 13.000 rpm-tan zentrifugatu ziren 30 minutuz giro tenperaturan. Gainjalkinetan biotinilatutako proteinak modu espezifikoan purifikatzeko estreptabidina bidezko afinitate-purifikazioa erabili zen, ingelesez *pull-down* deritzon prozesuan. *Pull-down* entsegua aurretik argitaratutako metodologia jarraituz burutu zen (Barroso-Gomila et al., 2021).

Alde batetik, zeluletatik erauzitako proteinarekin Western plapaketa burutu zen anti-biotina eta anti-FLAG antigorputzak erabilita. Honek, FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7ren adierazpena eta laginen biotinilazioa egokia zela adierazi zuen (5a. irudia). Bestetik, purifikazioaren aurreko proteina erauzkinaren frakzio bat (*input*-a) eta estreptabidina bihitxoekin purifikatutako laginak (*pull-down* laginak, PD) aztertu ziren Western plapaketa bidez, E2F7 eta CTBP1/2 proteinen maila aztertu nahian (5b. irudia). E2F7 detektatzeko anti-E2F7 antigorputza erabili zen, eta beraz, E2F7 endogenoa (•) eta FLAG-TurboID-E2F7 (o) ezagutzeko gai da, input-etan ikus daitekeen moduan. PD-etako laginetan E2F7 seinalea soilik FLAG-TurboID-E2F7 adierazitako baldintzan detektatu zen, FLAG-TurboID-E2F7 bere burua biotinilatzeko gai dela adieraziz. CTBP1/2 proteina FLAG-TurboID-E2F7 laginean identifikatu zen espezifikoki. FLAG-TurboID kontrolean, aldiz, ez zen CTBP1/2rik ageri, esperotako moduan, CTBP1/2 E2F7ren interaktore ezaguna baita. Datu hauek adierazten dute garatutako U2OS FLAG-TurboID-E2F7 sistema E2F7ren interaktoreak modu espezifikoan identifikatzeko eta purifikatzeko balio duela.

5. irudia. FLAG-TurboID-E2F7 sistema E2F7rekin elkarrekiten duten proteinak identifikatzeko hurbilketa egokia da. FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 zelulak adierazitako baldintzetan doxiziklinarekin (Dox) 10 orduz tratatu ziren 100 ng/mL eta 500 ng/mL kontzentrazioetan, hurrenez hurren. Biotina 50 µMko kontzentrazioan 2 orduz gehitu zen. (A) FLAG-TurboIDren eta FLAG-TurboID-E2F7ren biotinilazio-maila antzekoak dira doxiziklina gehitutako laginetan. (B) FLAG-TurboID eta FLAG-TurboID-E2F7 doxiziklinarekin edo doxiziklina gabe tratatutako laginen biotinaren aurkako *pull-down*-a (PD). E2F7ren forma endogenoa (•) eta gainadierazitakoa (FLAG-TurboID-E2F7, o) detektatu ziren anti-E2F7 antigorputza (sc-32574, Santa Cruz) erabiliz. CTBP1/2ren kasuan (sc-17759, Santa Cruz), input eta PD laginentzat esposizio-denbora ezberdineko argazkiak erakusten dira.



4. Ondorioak

E2F7ren ekintza-mekanismoa ezezaguna den arren, zelulen funtsezko prozesuetan eta patologia ugaritan parte hartzen duela jakina da. Horregatik, E2F7ren funtzioetan elkarlanean aritzen diren proteinak (bere interaktoreak) zeintzuk diren ezagutzeak zelulen biologia eta gaixotasun ezberdinen garapena hobeto ulertzen lagundu dezake. E2F7ren interaktoma ezagutzeko TurboID biotina ligasaren bidezko proteinen gertuko biotinilazio estrategia garatu

dugu lan honetan. Sistema hau doxiziklinaren menpekoa da, eta doxiziklinaren presentzian FLAG-TurboID (kontrol negatiboa) eta FLAG-TurboID-E2F7 proteinak adierazten dituzten zelula-lerro egonkorrak eratu ditugu.

E2F7 basatiaren kokapen azpizelularrarekin bat eginez, FLAG-TurboID-E2F7 nukleoan kokatzen da nagusiki. Biotinilazio nabariena konpartimentu honetan detektatu da, E2F7ren interaktore nagusiak nukleoan kokatzen direla adieraziz. Hala ere, immunofluoreszentzia entseguetan, zelula hauetako zitoplasman ere detektatu dugu biotinilazio seinalea, E2F7k zitoplasman dauden proteinekin elkarreragin dezakeela adieraziz. *Pull-down* entseguek ekoiztutako TurboID sistema E2F7ren interaktoreak identifikatzeko baliagarria dela frogatzen dute. Izan ere, FLAG-TurboID-E2F7 proteina, baina ez FLAG-TurboID kontrol negatiboa, E2F7ren interaktore ezagunak den CTBP1/2 espezifikoki biotinilatzeko gai dela frogatu dugu. Emaitza hauek FLAG-TurboID-E2F7 zelulen egokitasunaren adierazle dira, lan honetan ekoiztutako sistemak E2F7ren interaktore berriak identifikatzeko aukera ematen duela erakutsiz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetan E2F7ren interaktoreak identifikatzeko sistema bat martxan jarri da. Hala, ikerketa honetan aztertutako baldintzak erabiliz, hurrengo urratsa *pull-down* entseguak eskala handiago batean gauzatzea izango litzateke. Esperimentu hauetatik lortutako laginak masa-espektrometrian aztertu litezke, orain arte ezezagunak diren E2F7 interaktoreak identifikatzeko xedearekin. Bestalde, lan honetan burututako esperimentuek adierazten duten moduan, E2F7 bereziki proteina nuklear moduan deskribatu den arren, zitoplasman ere interaktoreen seinalea aurki daitekeela ikusi dugu. Hala, etorkizuneko esperimentuetan zitoplasman aurkitu dugun biotinilazioa benetan E2F7ren interaktoreen seinalea dela konprobatu genezake, eta horrela izatekotan, E2F7ri funtzionalki nola erlazionatuta dauden aztertu. Gainera, TurboID-k duen biotinilazio-gaitasun azkarraz baliatuta, E2F7ren interaktore "puntualak" deskribatzeko erabil liteke. Adibidez, E2F transkripzio faktoreek ziklo zelularreko fasearen arabera proteina-konplexu ezberdinekin asoziatu daitezkeela ikusi da. Horrela, FLAG-TurboID-E2F7 zelulak ziklo zelularreko fase ezberdinetan sinkronizatu litezke, zikoaren fase bakoitzean E2F7 zein proteinekin aritzen den elkarlanean aztertzeko aukera eskainiz.

6. Erreferentziak

Barroso-Gomila, O., Trulsson, F., Muratore, V., Canosa, I., Merino-Cacho, L., Cortazar, A. R., Pérez, C., Azkargorta, M., Iloro, I., Carracedo, A., Aransay, A. M., Elortza, F., Mayor, U., Vertegaal, A. C. O., Barrio, R., & Sutherland, J. D. (2021). Identification of proximal SUMO-dependent interactors using SUMO-ID. Nature communications, 12(1), 6671. https://doi.org/10.1038/s41467-021-26807-6

Branon, T. C., Bosch, J. A., Sanchez, A. D., Udeshi, N. D., Svinkina, T., Carr, S. A., Feldman, J. L., Perrimon, N., eta Ting, A. Y. (2018). Efficient proximity labeling in living cells and organisms with TurboID. Nature Biotechnology, 36(9), 880–887. https://doi.org/10.1038/nbt.4201

Cho, K. F., Branon, T. C., Udeshi, N. D., Myers, S. A., Carr, S. A., eta Ting, A. Y. (2020). Proximity labeling in mammalian cells with TurboID and split-TurboID. Nature Protocols, 15(12), 3971-3999. https://doi.org/10.1038/s41596-020-0399-0

de Bruin, A., Maiti, B., Jakoi, L., Timmers, C., Buerki, R., eta Leone, G. (2003). Identification and characterization of E2F7, a novel mammalian E2F family member capable of blocking cellular proliferation. The Journal of Biological Chemistry, 278(43), 42041-42049. https://doi.org/10.1074/jbc.M308105200

Hamidi, M., Eriz, A., Mitxelena, J., Fernandez-Ares, L., Aurrekoetxea, I., Aspichueta, P., Iglesias-Ara, A., eta Zubiaga, A. M. (2022). Targeting E2F Sensitizes Prostate Cancer Cells to Drug-Induced Replication Stress by Promoting Unscheduled CDK1 Activity. Cancers, 14(19), 4952. https://doi.org/10.3390/cancers14194952

Kent, L. N., eta Leone, G. (2019). The broken cycle: E2F dysfunction in cancer. Nature Reviews Cancer, 19(6), 326-338. https://doi.org/10.1038/s41568-019-0143-7

Kimmel, J., Kehrer, J., Frischknecht, F., eta Spielmann, T. (2022). Proximity-dependent biotinylation approaches to study apicomplexan biology. Molecular Microbiology, 117(3), 553-568. https://doi.org/10.1111/mmi.14815

Lammens, T., Li, J., Leone, G., eta De Veylder, L. (2009). Atypical E2Fs: New players in the E2F transcription factor family. Trends in Cell Biology, 19(3), 111-118. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2009.01.002

Liu, B., Shats, I., Angus, S. P., Gatza, M. L., eta Nevins, J. R. (2013). Interaction of E2F7 transcription factor with E2F1 and c-terminal-binding protein (CtBP) provides a mechanism for E2F7-dependent transcription repression. Journal of Biological Chemistry, 288(34), 24581-24589. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.467506

Milone, M. C., eta O'Doherty, U. (2018). Clinical use of lentiviral vectors. Leukemia, 32(7), 1529-1541. https://doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0

Mitxelena, J., Apraiz, A., Vallejo-Rodríguez, J., García-Santisteban, I., Fullaondo, A., Alvarez-Fernández, M., Malumbres, M., eta Zubiaga, A. M. (2018). An E2F7-dependent transcriptional program modulates DNA damage repair and genomic stability. Nucleic Acids Research, 46(9), 4546-4559. https://doi.org/10.1093/nar/gky218

Rubin, S. M., Sage, J., eta Skotheim, J. M. (2020). Integrating Old and New Paradigms of G1/S Control, 80(2), 183-192. Molecular Cell. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.08.020

Zhao, L. J., Subramanian, T., Vijayalingam, S., eta Chinnadurai, G. (2014). CtBP2 proteome: Role of CtBP in E2F7-mediated repression and cell proliferation. Genes & cancer, 5(1-2), 31–40. https://doi.org/10.18632/genesandcancer.

7. Eskerrak eta oharrak

Ana Maria Zubiagak Espainiako Jaurlaritzako (Ministerio de Ciencia e Innovación, PID2021-122922OB-I00) eta Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Saileko (IT1547-22) diru-laguntzak jaso ditu. Jone Mitxelenak Ikerbasque research fellow (2020) kontratua dauka. Ekaitz Madariaga Eusko Jaurlaritzako doktoretza aurreko diru-laguntza baten jabea da.

Garun-aktibitatea fisioterapiak duen eraginkortasuna iragartzeko faktorea lepoko min kroniko ez espezifikoa duten pazienteetan

Ander Cervantes-Benitez[1], Aitor Aranguren-Alberdi, Carmen Vidaurre[2], Ivan Carbajo[3], Ana Lersundi[4], Iñaki Carrillo[4], Cristina Sarasqueta[5], Ane Arbillaga-Etxarri[1], Ion Lascurain-Aguirrebeña[6]

[1]*Deusto Physical TherapIker, Fisioterapia saila, Deustuko Unibertsitatea, Donostia.*
[2]*IKERBASQUE, Neuroteknologia Taldea, Tecnalia-Health.*
[3]*Errehabilitazio zerbitzua, OSI Donostialdea.*
[4]*Traumatologia zerbitzua, OSI Donostialdea.*
[5]*Ikerketa Unitatea, Biodonostia, Donostia.*
[6]*Medikuntza eta Erizaintzako Fakultatea, Fisioterapia, Fisiologia saila, UPV/EHU, Leioa.*
ander.cervantes@deusto.es

Laburpena

Lepoko min kroniko ez espezifikoa osasun arazo garrantzitsua bilakatu da. Egun, badakigu paziente hauetan garuneko aldaketa estruktural eta funtzionalak gertatzen direla. Garun-aktibitatean biomarkatzaileen aurkikuntzak ebaluazioa eta tratamendua hobetzea ekar dezake. Lan honetan, lepoko min kroniko ez espezifikoa pairatzen duten pazienteen ezaugarri klinikoak eta garun-aktibitatea ebaluatuko dira fisioterapiako tratamendu aurretik eta ostean. Gure helburua garun-aktibitatearen eta profil somatosentsorialen ebaluazioek duten fisioterapia tratamenduaren eraginkortasuna aurresateko gaitasuna ezagutzea da, tratamendu aurretik eta tratamendu ondorengo aldaketei arreta jarriz.

Hitz gakoak: lepoko min kronikoa, profil somatosentsoriala, garun-aktibitatea, EEG, fNIRS.

Abstract

Chronic non-specific neck pain has become a major health problem. Several studies have shown that structural and functional brain changes occur in these patients. Searching for biomarkers in brain activity may lead to a better evaluation and treatment. In this paper we will assess the clinical characteristics and brain activity of patients suffering from chronic non-specific neck pain before and after physiotherapy treatment. Our aim is to know the ability of brain activity assessments and somatosensory profiles to predict the efficacy of physiotherapy treatment, focusing on pre-treatment and post-treatment changes.

Keywords: chronic neck pain, somatosensory profile, brain activity, EEG, fNIRS.

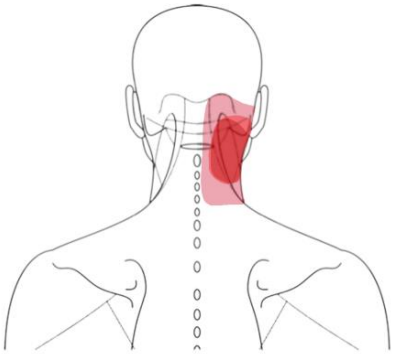
1. Sarrera eta motibazioa

Lepoko mina edo zerbikalgia okzipuzio eta lehenengo orno toraziko arteko minari deritzo (**1. irudia**) eta maiz, beste sintoma batzuekin ere agertzen da, hain zuzen ere, min erreferitua goiko gorputz-adarrean zein gune intereskapularrean, mugikortasunaren gutxitzea, zurruntasuna eta zefaleak (van Eerd et al., 2010). Kostu ekonomikoak eta sozialak ez ezik, osasun-arloan ere kontuan hartzeko gastuak eragiten dituen ohiko patologia da (Jennum et al., 2013); pazienteetan desgaitasuna eraginez, bizi-kalitatea gutxiagotuz eta parte-hartze soziala mugatuz (Mansfield et al., 2018; Nolet et al., 2015).

Lepoko mina duten pazienteen eboluzioa luzatzen denean, gehiengoaren diagnostikoa zerbikalgia kroniko ez espezifikoa (ZKEE) izaten da, hau da, lepoko min kronikoa kausa organiko eta anatomiko identifikagarri esanguratsuen gabeziarekin (Farrell et al., 2019). Egungo ebidentziaren arabera, ZKEEren etiologia multifaktoriala da eta honen garapenean faktore fisikoak, osteomuskularrak, psikologikoak eta neurofisiologikoek hartzen dute parte (McLean et al., 2010). Eragile fisiko eta osteomuskularren artean, postura (Lau et al., 2010), orno eta orno arteko diskoen endekatze-prozesuak (Yang et al., 2020), morfologiaren alterazioak (De Pauw et

al., 2016), zurruntasun eta aktibitate muskularraren aldaketak (Dieterich et al., 2020), mugikortasun artikularraren murrizketa (Johnston et al., 2008) eta obesitatea (Fernández-de-las-Peñas et al., 2011) identifikatu dira, besteak beste. Antsietate-maila eta depresioa (Linton, 2000), katastrofismoa eta kinesiofobia (Howell et al., 2012) lepoko min kronikoan erlazioa duten faktore psikologikotzat hartu dira. Azken hamarkadan, aldaketa neurofisiologikoak aztertu dituzten ikerketek min kroniko muskulu-eskeletikoaren atzetik seinale nozizeptiboen prozesamendu zentrala egon daitekeela adierazi dute. Prozesamendu zentral hau mekanismo pronozizeptiboengatik alteratua egon daiteke, hots, plastizitate neuronalak eragindako seinale kitzikagarri nozizeptiboaren areagotzeagatik edota mekanismo antinozizeptiboak edo modulazio endogenoak mina gutxitzeko duen ahalmenaren gutxitzeagatik. Hauek guztiek neurona nozizeptiboen kitzikagarritasunaren eta efizientzia sinaptikoaren handitzea ekar dezakete, minaren pertzepzioaren handitzearekin batera (Latremoliere & Woolf, 2009; Woolf, 2011).

1. irudia. Lepoko minaren edo zerbikalgiaren eremu anatomikoa. Perreault et al. (2022) artikuluan *Creative Commons Attribution* lizentziapean argitaratutakoaren moldaketa.



Mekanismo pro- eta antinozizeptiboen garrantzi klinikoa ikerketa eta meta-analisi anitzetan aipatu dira (Lewis et al., 2012; Mercer Lindsay et al., 2021; Yarnitsky, 2015), hauen alterazioa izanik min muskulu-eskeletikoa pairatzen duten pazienteen kausetako bat, minaren lokalizazioa desberdina izan arren. Gainera, mekanismo hauek erlazio zuzena daukate pazientearen minaren pertzepzioarekin eta desgaitasun-mailarekin (Staud, 2012). Mina pairatzen duten pazienteetan mekanismo pro- eta antinozizeptiboen ebaluazioak sendabide indibidualizatuen garapenean lagundu dezake ondorio klinikoak hobetzeko helburuarekin (Yarnitsky et al., 2014). Horretarako, garrantzitsua da mekanismo hauen ebaluazio-teknika zehatzenak eta esanguratsuenak definitzea.

Horietako bat azterketa sentsorial kuantitatiboa edo QST (*Quantitative Sensory Testing*) da. Pertzepzio sentsoriala eta mina ebaluatzeko test estandarizatu eta formalizatua da, zeinetan estimulu kalibratuak aplikatzen diren sentikortasun eta min atalaseak definitzeko. Hau da, sistema somatosentsorialaren funtzioaren informazioa lortzen da, nerbio zuntz sentsorialetatik garuneko bidera (Tampin et al., 2012). Metodo honek pazienteetan gertatu diren aldaketa neurofisiologikoei buruzko informazioa emango digu.

Garun-azaleko aktibitate elektrikoa neurtu dezakeen teknika elektroentzefalografia (EEG) da, eta tresna hau erabili duten ikerketetan min kronikoko pazienteetan aldaketa estruktural eta funtzional esanguratsuak aurkitu dituzte (Baliki & Apkarian, 2015). Zenbat eta estimulu mingarria handiagoa izan, orduan eta aldaketa handiagoak EEGko alfa bandetan (de Vries et al., 2013). Honekin batera, garun-area frontalean theta eta gamma banden konektibitatearen areagotzea ikusi da, bereziki, gamma frekuentziaren berrantolaketa globalarekin batera (Ta Dinh et al., 2019). Oro har, min kronikoko pazienteetan egindako ikerketa gehienetan theta eta alfa oszilazioen areagotzea ikusi da modu kontsistente batean eta alterazio neurofisiologiko hauek disritmia talamokortikalarekin erlazionatua izan dira (R. Llinás et al., 2005). Kontzeptu honek ezohiko estimulu nozizeptiboak eragindako hiperkitzikagarritasun talamikoari egiten dio erreferentzia (R. R. Llinás et al., 1999). Gauzak horrela, EEG minaren diagnostikoan, pronostikoan, sailkapenean, prebentzioan eta tratamenduan markatzaile lagungarri bat izan daiteke (Davis et al., 2017; Upadhyay et al., 2018).

Garun-aktibitatea neurtu dezakeen beste tresna bat infragorri hurbileko espektroskopia funtzionala edo fNIRS (*Functional Near-Infrared Spectroscopy*) da. Honen bitartez garun-

azalaren hemodinamika erregistratu daiteke hemoglobinaren propietate optiko bereziak direla eta. fNIRSak erresonantzia magnetiko funtzionalak baino denbora-bereizmen handiagoa dauka eta EEGk baino espazio-bereizmen handiagoa. Gainera, gailu eramangarria eta ez-inbaditzailea denez, esparru klinikoan erabiltzeko abantailak ekartzen ditu (Hu et al., 2021). Are gehiago, EEGrekin batera lan egin dezake garun-aktibitatearen ebaluazioa osatzeko. Izan ere, EEG-fNIRS aldi bereko erregistroekin minaren prozesamenduan inplikaturiko garun-azaleko aktibazioa neurtu daiteke eta aktibazio hau eragiten duten mekanismo elektrofisiologiko eta funtzionalei buruz gehiago ezagutu. Hortaz, min kronikoan garun-aktibitatean oinarritutako biomarkatzaile ezberdinak ezartzeko, EEG eta fNIRSaren erabilera oso erakargarria izan daiteke metodo segurua, errentagarria, eskuragai eta mugikorra delako.

Literatura zientifikoan, ZKEE duten pazienteen gehiengoari fisioterapia-tratamendu kontserbadorea (FTK) gomendatzen zaie eta tratamendu kirurgikoa paziente kopuru txikiago bateri egokitzen zaio azken aukera bezala (Côté et al., 2016). FTK horren barne esku-terapia eta zerbikaletako muskuluetara zuzendutako ariketa terapeutikoa kontsideratu behar direla azaldu da hainbat gidetan (Bier et al., 2018; Blanpied et al., 2017; Parikh et al., 2019). Hala ere, FTKk onura orokorrak dakartzan arren, errebisio sistematikoetan (Amiri Arimi et al., 2017; Araujo et al., 2017; Damgaard et al., 2013; Fredin & Lorås, 2017) eskuratutako efektua xumea da eta honen zergatia ZKEEk duen jatorri multifaktoriala eta pazienteen ezaugarri heterogeneoak biltzen direla izan daiteke. Hortaz, FTKrekin hobeto erantzungo duten pazienteen ezaugarriak ezagutzea eta identifikatzea behar-beharrezkoa da tratamenduari hain ondo erantzuten ez dutenekin bereizteko (Araujo et al., 2017; Damgaard et al., 2013; Hidalgo et al., 2017). Honek interbentzio terapeutikoa pazienteari egokitzea erraztuko luke eta gainera, fisioterapia tratamenduaren eraginkortasun globala hobetuko litzateke.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Nahiz eta min kronikoko pazienteetan garun-aktibitatean aurkituriko patroien alterazioa dagoenaren ebidentzia izan, ZKEE pairatzen duten pazienteetan ez da ikerketarik egin profil somatosentsoriala eta EEGko zein fNIRSeko datuak kontuan hartzen duenik ezta horren arabera azpisailkapenik egiten duenik ere. Beraz, ikerketa honen egitasmoa ZKEEko pazienteetan bai garun-aktibitatearen (EEG eta fNIRSaren konbinazioz) bai QSTaren bitartez definitu daitezkeen biomarkatzaileak aurkitzea da, paziente hauen bizi-kalitatea hobetzeko asmoz eta haien ezaugarri klinikoetara egokitutako tratamendu espezifikoagoak programatzeko.

2.1 Helburuak

1) Fisioterapia-tratamenduari eraginkortasun altuenarekin erantzungo duten lepoko min kroniko ez espezifikoko pazienteen azpitaldeak identifikatzea garun-aktibitatean eta profil somatosentsorialetan oinarrituta.
2) Fisioterapia-tratamenduaren eraginkortasuna zehaztea esplorazio klinikoan, garun-aktibitatearen ebaluazioan eta ebaluazio somatosentsorialean aurkituriko disfuntzioen normalizaziorako.
3) Sintomatologiaren hobekuntza esplorazio klinikoan, garun-aktibitatearen ebaluazioan edota ebaluazio somatosentsorialean aurkituriko disfuntzioen normalizazioarekin asoziatuta dagoen zehaztea.

3. Ikerketaren muina

Ikerketa honen diseinua kontrol talderik gabeko ikerketa esperimental multizentrikoa da eta parte hartzaileen ezaugarriak honako hauek dira:

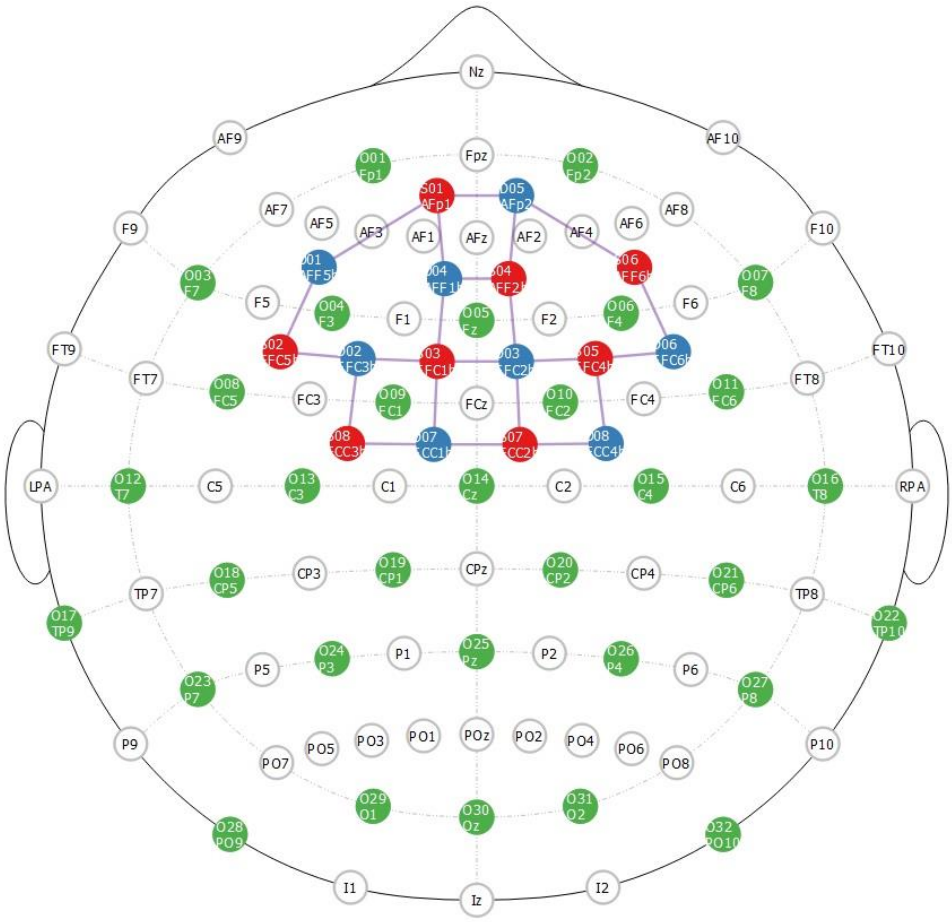
- Barneratze irizpideak: 18-80 urte bitartean lepoko min kroniko ez espezifikoa duten pazienteak.
- Kanporatze irizpideak: Gaixotasun larri baten zeinuak, mielopatia zerbikala, tumoreak, gaixotasun erreumatikoak, nerbio sistema zentralaren gaixotasun neurologikoak, jatorri traumatikoko lepoko min kronikoa, bizkarrezur zerbikalaren aurretiko interbentzio kirurgikoa jaso izana.

Interbentzioa ebidentzia zientifikoan oinarritutako fisioterapia tratamendua izango da. Guztira 45 minutuko 6 saio (bat astean) jasoko dituzte eta fisioterapeutak bizkarrezur zerbikal eta torazikoaren mobilizazioak (Gross et al., 2015), trakzio subokzipitalak (Bernal-Utrera et al., 2020), ehun biguneko zein berreziketa posturaleko teknikak (Domingues et al., 2019) erabiliko ditu. Hortaz gain, pazienteei ariketa espezifikoko programa bat irakatsiko zaie (Bier et al., 2018; Blanpied et al., 2017; Childs et al., 2008).

Aztertuko diren aldagaiak eta balorazio eskalei dagokienez, lepoko mina eta honek eragindako desgaitasuna neurtzeko, pazienteak deskribatutako hobekuntza subjektiboa *Global Rating of Change Scale* (GROC); lepoko desgaitasunaren indizea eta lepoko minaren eskala subjektiboa *Numeric Pain Rating Scale* (NPRS) erabiliko dira. Hauek emaitzaren aldagaiak izango dira.

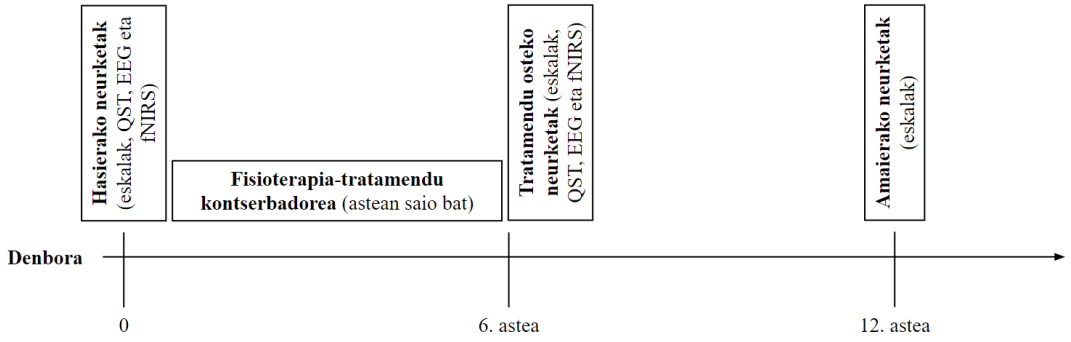
Iragarpen aldagai bezala, azterketa klinikoan eskuratu daitezkeen datuak kontuan hartuko dira, bai datu soziodemografikoak (sexua, adina, pisua, altuera, lan-egoera eta azken astean egindako jarduera fisikoa, IPAQ galdetegiarekin) bai datu klinikoak (erresonantzia magnetiko nuklear eta erradiografia sinplea, min maparen irudikapena, sintomatologiaren iraupena, azken urtean jasotako tratamenduak, tratamendu farmakologikoa eta azken bi asteetako analgesikoen kontsumoa). Hauekin batera, azterketa neuromuskulu-eskeletikoa ere gauzatuko da: disfuntzio muskular zerbikaleko testak, mugikortasun artikularra eta sintomen eragitea irristapen lateraleko eta flexio zerbikal lateraleko mugimendu pasiboekin. Azkenik, nerbio sistemaren azterketa QSTarekin (estimulu termikoen antzemate eta min-atalaseak, presioaren min-atalasea, minaren batuketa tenporala, minaren modulazio baldintzatua eta analgesiaren konpentsazioa edo *offset analgesia)*, eta garun-aktibitatea EEG eta fNIRSarekin neurtuko da. **2. irudia**n, telazko txano batean kokatuko diren elektrodoen eta optodoen konfigurazioa ageri da.

2. irudia. Garun-aktibitatea neurtzeko konfigurazioa. EEGko elektrodoak (berdez) eta fNIRSeko optodoak (gorriz eta urdinez) bilduko dituen muntaia.



Ikerketan parte hartuko duten pazienteei, lehenengo egunean aipatutako eskalak betetzeko eskatuko zaie eta garun-aktibitatearen ebaluazioa egingo zaie bi egoera desberdinetan: atsedenaldian eta QSTko estimuluak jasotzen dituzten bitartean. Hurrengo 6 asteetan zehar, programatutako FTK jasoko dute astean behin eta tratamendu osteko neurketa berdinak egingo zaizkie. Bukatzeko, 12. astean lepoko minarekin eta desgaitasun mailarekin erlazionatutako eskalak soilik beteko dituzte, **3. irudia**n laburtzen den eran.

3. irudia. Ikerketaren kronologia.



Analisi estatistikoari dagokionez, aldagai independente eta emaitza aldagaien asoziazioa zehazteko analisi unibariantea gauzatuko da, tratamenduaren erantzule eta ez-erantzuleen arteko bereizketa lortu ahal izateko. Ondoren, iragarpen modelo honetan, $p<0.20$ eskuratzen duten aldagaiak erregresio logistiko multiple binarioan sartuko dira.

4. Ondorioak

Azterketa klinikoan, ebaluazio somatosentsorialean eta garun-aktibitatearen ebaluazioan oinarrituta, ZKEE pairatzen duten pazienteen sailkapen bat lortzea da ikerketa honen helburu nagusia, fisioterapia-tratamenduarekin izandako eraginkortasunaren arabera. Sailkapen honek fisioterapiako tratamenduarekin hobetuko duten pertsonen azpitalde desberdinak osatzea erraztu dezake, etorkizunean patroi edo ezaugarri berdinak betetzen dituzten pazienteen osasun asistentzia pertsonalizatuagoa erraztuz. Gainera, praktika klinikoan min muskulu-eskeletikoaren ebaluaziorako aplikatu daitezkeen ebaluazio-tresna interesgarriak bilakatu daitezke.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Ebaluazioan aurkitu daitezkeen biomarkatzaile berrien ezagutzak ZKEEren interbentzio fisioterapeutikoaren eraginkortasun maila hobetzea ekar dezake. Hain zuzen ere, min kronikoan gertatzen den konektibitate lokal eta sare neuronal global aberrantearekin lotutako fenomenoei aurre egiteko tratamenduetara iristeko. Ondoren, eraginkorrak diren tratamendu hauek hobeto erantzuten duten pazienteekin egin ahal izango dira. Ikerketa honek lepoko min kronikoko pazienteak bilduko dituen bezala, min kronikoko beste entitate desberdinak pairatzen dituzten paziente-multzo handien ezaugarriak aztertu eta ezagutu beharko lirateke, azpitaldeen analisirako eta interbentzio-efektuen azterketarako.

6. Erreferentziak

Amiri Arimi, S., Mohseni Bandpei, M. A., Javanshir, K., Rezasoltani, A., & Biglarian, A. (2017). The Effect of Different Exercise Programs on Size and Function of Deep Cervical Flexor Muscles in Patients With Chronic Nonspecific Neck Pain: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, *96*(8), 582–588. https://doi.org/10.1097/PHM.0000000000000721

Araujo, F. X. de, Scholl Schell, M., & Ribeiro, D. C. (2017). Effectiveness of Physiotherapy interventions plus Extrinsic Feedback for neck disorders: A systematic review with meta-analysis. *Musculoskeletal Science & Practice*, *29*, 132–143. https://doi.org/10.1016/j.msksp.2017.04.005

Baliki, M. N., & Apkarian, A. V. (2015). Nociception, Pain, Negative Moods, and Behavior Selection. *Neuron*, *87*(3), 474–491. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.06.005

Bernal-Utrera, C., Gonzalez-Gerez, J. J., Anarte-Lazo, E., & Rodriguez-Blanco, C. (2020). Manual therapy versus therapeutic exercise in non-specific chronic neck pain: A randomized controlled trial. *Trials*, *21*(1), 682. https://doi.org/10.1186/s13063-020-04610-w

Bier, J. D., Scholten-Peeters, W. G. M., Staal, J. B., Pool, J., van Tulder, M. W., Beekman, E., Knoop, J., Meerhoff, G., & Verhagen, A. P. (2018). Clinical Practice Guideline for Physical Therapy Assessment and Treatment in Patients With Nonspecific Neck Pain. *Physical Therapy*, *98*(3), 162–171. https://doi.org/10.1093/ptj/pzx118

Blanpied, P. R., Gross, A. R., Elliott, J. M., Devaney, L. L., Clewley, D., Walton, D. M., Sparks, C., & Robertson, E. K. (2017). Neck Pain: Revision 2017. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, *47*(7), A1–A83. https://doi.org/10.2519/jospt.2017.0302

Childs, J. D., Cleland, J. A., Elliott, J. M., Teyhen, D. S., Wainner, R. S., Whitman, J. M., Sopky, B. J., Godges, J. J., Flynn, T. W., & American Physical Therapy Association. (2008). Neck pain: Clinical practice guidelines linked to the International Classification of Functioning, Disability, and Health from the Orthopedic Section of the American Physical Therapy Association. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, *38*(9), A1–A34. https://doi.org/10.2519/jospt.2008.0303

Côté, P., Wong, J. J., Sutton, D., Shearer, H. M., Mior, S., Randhawa, K., Ameis, A., Carroll, L. J., Nordin, M., Yu, H., Lindsay, G. M., Southerst, D., Varatharajan, S., Jacobs, C., Stupar, M., Taylor-Vaisey, A., van der Velde, G., Gross, D. P., Brison, R. J., … Salhany, R. (2016). Management of neck pain and associated disorders: A clinical practice guideline from the Ontario Protocol for Traffic Injury Management (OPTIMa) Collaboration. *European Spine Journal: Official Publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*, *25*(7), 2000–2022. https://doi.org/10.1007/s00586-016-4467-7

Damgaard, P., Bartels, E. M., Ris, I., Christensen, R., & Juul-Kristensen, B. (2013). Evidence of Physiotherapy Interventions for Patients with Chronic Neck Pain: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials. *ISRN Pain*, *2013*, 567175. https://doi.org/10.1155/2013/567175

Davis, K. D., Flor, H., Greely, H. T., Iannetti, G. D., Mackey, S., Ploner, M., Pustilnik, A., Tracey, I., Treede, R.-D., & Wager, T. D. (2017). Brain imaging tests for chronic pain: Medical, legal and ethical issues and recommendations. *Nature Reviews. Neurology*, *13*(10), 624–638. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.122

De Pauw, R., Coppieters, I., Kregel, J., De Meulemeester, K., Danneels, L., & Cagnie, B. (2016). Does muscle morphology change in chronic neck pain patients? - A systematic review. *Manual Therapy*, *22*, 42–49. https://doi.org/10.1016/j.math.2015.11.006

de Vries, M., Wilder-Smith, O. H., Jongsma, M. L., van den Broeke, E. N., Arns, M., van Goor, H., & van Rijn, C. M. (2013). Altered resting state EEG in chronic pancreatitis patients: Toward a marker for chronic pain. *Journal of Pain Research*, *6*, 815–824. https://doi.org/10.2147/JPR.S50919

Dieterich, A. V., Yavuz, U. Ş., Petzke, F., Nordez, A., & Falla, D. (2020). Neck Muscle Stiffness Measured With Shear Wave Elastography in Women With Chronic Nonspecific Neck Pain. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, *50*(4), 179–188. https://doi.org/10.2519/jospt.2020.8821

Domingues, L., Pimentel-Santos, F. M., Cruz, E. B., Sousa, A. C., Santos, A., Cordovil, A., Correia, A., Torres, L. S., Silva, A., Branco, P. S., & Branco, J. C. (2019). Is a combined programme of manual therapy and exercise more effective than usual care in patients with non-specific chronic neck pain? A randomized controlled trial. *Clinical Rehabilitation*, *33*(12), 1908–1918. https://doi.org/10.1177/0269215519876675

Farrell, S. F., Smith, A. D., Hancock, M. J., Webb, A. L., & Sterling, M. (2019). Cervical spine findings on MRI in people with neck pain compared with pain-free controls: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI*, *49*(6), 1638–1654. https://doi.org/10.1002/jmri.26567

Fernández-de-las-Peñas, C., Hernández-Barrera, V., Alonso-Blanco, C., Palacios-Ceña, D., Carrasco-Garrido, P., Jiménez-Sánchez, S., & Jiménez-García, R. (2011). Prevalence of neck and low back pain in community-dwelling adults in Spain: A population-based national study. *Spine*, *36*(3), E213-219. https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181d952c2

Fredin, K., & Lorås, H. (2017). Manual therapy, exercise therapy or combined treatment in the management of adult neck pain—A systematic review and meta-analysis. *Musculoskeletal Science & Practice*, *31*, 62–71. https://doi.org/10.1016/j.msksp.2017.07.005

Gross, A., Langevin, P., Burnie, S. J., Bédard-Brochu, M.-S., Empey, B., Dugas, E., Faber-Dobrescu, M., Andres, C., Graham, N., Goldsmith, C. H., Brønfort, G., Hoving, J. L., & LeBlanc, F. (2015). Manipulation and mobilisation for neck pain contrasted against an inactive control or another active treatment. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *9*, CD004249. https://doi.org/10.1002/14651858.CD004249.pub4

Hidalgo, B., Hall, T., Bossert, J., Dugeny, A., Cagnie, B., & Pitance, L. (2017). The efficacy of manual therapy and exercise for treating non-specific neck pain: A systematic review. *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*, *30*(6), 1149–1169. https://doi.org/10.3233/BMR-169615

Howell, E. R., Hudes, K., Vernon, H., & Soave, D. (2012). Relationships Between Cervical Range of Motion, Self-Rated Disability and Fear of Movement Beliefs in Chronic Neck Pain Patients. *Journal of Musculoskeletal Pain*, *20*(1), 18–24. https://doi.org/10.3109/10582452.2011.635849

Hu, X.-S., Nascimento, T. D., & DaSilva, A. F. (2021). Shedding light on pain for the clinic: A comprehensive review of using functional near-infrared spectroscopy to monitor its process in the brain. *Pain*, *162*(12), 2805–2820. https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002293

Jennum, P., Kjellberg, J., Ibsen, R., & Bendix, T. (2013). Health, social, and economic consequences of neck injuries: A controlled national study evaluating societal effects on patients and their partners. *Spine*, *38*(5), 449–457. https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3182819203

Johnston, V., Jull, G., Souvlis, T., & Jimmieson, N. L. (2008). Neck movement and muscle activity characteristics in female office workers with neck pain. *Spine*, *33*(5), 555–563. https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181657d0d

Latremoliere, A., & Woolf, C. J. (2009). Central Sensitization: A Generator of Pain Hypersensitivity by Central Neural Plasticity. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, *10*(9), 895–926. https://doi.org/10.1016/j.jpain.2009.06.012

Lau, K. T., Cheung, K. Y., Chan, K. B., Chan, M. H., Lo, K. Y., & Chiu, T. T. W. (2010). Relationships between sagittal postures of thoracic and cervical spine, presence of neck pain, neck pain severity and disability. *Manual Therapy*, *15*(5), 457–462. https://doi.org/10.1016/j.math.2010.03.009

Lewis, G. N., Rice, D. A., & McNair, P. J. (2012). Conditioned pain modulation in populations with chronic pain: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Pain*, *13*(10), 936–944. https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.07.005

Linton, S. J. (2000). A review of psychological risk factors in back and neck pain. *Spine*, *25*(9), 1148–1156. https://doi.org/10.1097/00007632-200005010-00017

Llinás, R. R., Ribary, U., Jeanmonod, D., Kronberg, E., & Mitra, P. P. (1999). Thalamocortical dysrhythmia: A neurological and neuropsychiatric syndrome characterized by magnetoencephalography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(26), 15222–15227. https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.15222

Llinás, R., Urbano, F. J., Leznik, E., Ramírez, R. R., & van Marle, H. J. F. (2005). Rhythmic and dysrhythmic thalamocortical dynamics: GABA systems and the edge effect. *Trends in Neurosciences*, *28*(6), 325–333. https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.04.006

Mansfield, M., Thacker, M., Spahr, N., & Smith, T. (2018). Factors associated with physical activity participation in adults with chronic cervical spine pain: A systematic review. *Physiotherapy*, *104*(1), 54–60. https://doi.org/10.1016/j.physio.2017.01.004

McLean, S. M., May, S., Klaber-Moffett, J., Sharp, D. M., & Gardiner, E. (2010). Risk factors for the onset of non-specific neck pain: A systematic review. *Journal of Epidemiology and Community Health*, *64*(7), 565–572. https://doi.org/10.1136/jech.2009.090720

Mercer Lindsay, N., Chen, C., Gilam, G., Mackey, S., & Scherrer, G. (2021). Brain circuits for pain and its treatment. *Science Translational Medicine*, *13*(619), eabj7360. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj7360

Nolet, P. S., Côté, P., Kristman, V. L., Rezai, M., Carroll, L. J., & Cassidy, J. D. (2015). Is neck pain associated with worse health-related quality of life 6 months later? A population-based cohort study. *The Spine Journal: Official Journal of the North American Spine Society*, *15*(4), 675–684. https://doi.org/10.1016/j.spinee.2014.12.009

Parikh, P., Santaguida, P., Macdermid, J., Gross, A., & Eshtiaghi, A. (2019). Comparison of CPG's for the diagnosis, prognosis and management of non-specific neck pain: A systematic review. *BMC Musculoskeletal Disorders*, *20*(1), 81. https://doi.org/10.1186/s12891-019-2441-3

Perreault, T., Cummings, M., Dommerholt, J., Hayes, D., & Hobbs, J. (2022). Periosteal Needling to the Cervical Articular Pillars as an Adjunct Intervention for Treatment of Chronic Neck Pain and Headache: A Case Report. *Applied Sciences*, *12*(6), Article 6. https://doi.org/10.3390/app12063122

Staud, R. (2012). Abnormal endogenous pain modulation is a shared characteristic of many chronic pain conditions. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *12*(5), 577–585. https://doi.org/10.1586/ern.12.41

Ta Dinh, S., Nickel, M. M., Tiemann, L., May, E. S., Heitmann, H., Hohn, V. D., Edenharter, G., Utpadel-Fischler, D., Tölle, T. R., Sauseng, P., Gross, J., & Ploner, M. (2019). Brain dysfunction in chronic pain patients assessed by resting-state electroencephalography. *Pain*, *160*(12), 2751–2765. https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001666

Tampin, B., Slater, H., Hall, T., Lee, G., & Briffa, N. K. (2012). Quantitative sensory testing somatosensory profiles in patients with cervical radiculopathy are distinct from those in patients with nonspecific neck-arm pain. *Pain*, *153*(12), 2403–2414. https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.08.007

Upadhyay, J., Geber, C., Hargreaves, R., Birklein, F., & Borsook, D. (2018). A critical evaluation of validity and utility of translational imaging in pain and analgesia: Utilizing functional imaging to enhance the process. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *84*, 407–423. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.08.004

van Eerd, M., Patijn, J., Lataster, A., Rosenquist, R. W., van Kleef, M., Mekhail, N., & Van Zundert, J. (2010). 5. Cervical facet pain. *Pain Practice: The Official Journal of World Institute of Pain*, *10*(2), 113–123. https://doi.org/10.1111/j.1533-2500.2009.00346.x

Woolf, C. J. (2011). Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*, *152*(3 Suppl), S2–S15. https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.09.030

Yang, X., Karis, D. S. A., & Vleggeert-Lankamp, C. L. A. (2020). Association between Modic changes, disc degeneration, and neck pain in the cervical spine: A systematic review of literature. *The Spine Journal: Official Journal of the North American Spine Society*, *20*(5), 754–764. https://doi.org/10.1016/j.spinee.2019.11.002

Yarnitsky, D. (2015). Role of endogenous pain modulation in chronic pain mechanisms and treatment. *Pain*, *156 Suppl 1*, S24–S31. https://doi.org/10.1097/01.j.pain.0000460343.46847.58

Yarnitsky, D., Granot, M., & Granovsky, Y. (2014). Pain modulation profile and pain therapy: Between pro- and antinociception. *Pain*, *155*(4), 663–665. https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.11.005

7. Eskerrak eta oharrak

Eskerrak eman nahi dizkiogu Deustuko Unibertsitateari, Euskal Herriko Unibertsitateari, Biodonostia Osasun Ikerketako Institutuari eta Eusko Jaurlaritzako Osasun sailari jasotako dirulaguntzengatik.

Alterazio kromosomikoak dituzten espermatozoideak identifikatzeko biomarkatzaileen hautaketa

Ainize Odriozola (1), Itziar Urizar (1), Beatriz Navarro (2), Irune Calzado (1), Malen Zabala (3), Nerea Subirán (1,3).

1. Euskal Herriko Unibertsitatea EHU/UPV, Fisiologia departamentua, Leioa (Bizkaia). ainize.odriozola@ehu.eus;itziar.urizar@ehu.eus;irune.calzado@ehu.eus; nerea.subiran@ehu.eus

2. Quiron Bilbao, Laguntza Bidezko Ugalketa Unitatea, Bilbo (Bizkaia).

3. Mepro Medical Reproductive Solutions, ikerketa eta garapen departamentua, Donostia (Gipuzkoa). mzabala@meprolife.com

Laburpena

Hornidura genetiko normala (kariotipo normala) duten gizonezko antzuek alterazio kromosomikoak izan ditzakete espermatozoideetan. Alterazio kromosomiko ohikoenak aneuploidiak dira, eta hauek FISH azterketaren bidez hautematen dira, baina analisi honek lagina suntsitzea dakar. Gainera, diagnostikoaren ondoren, ez dago tratamendu eraginkorrik, eta gizonari eta bikoteari eskaintzen zaien proposamen nagusia gameto maskulinoa semen emaile batekin ordeztea da. Ikerketa honek proteomika teknikak erabiliz aneuploidiak dituzten espermatozoideak identifikatzeko erreminta berriak sortzea du helburu.

Hitz gakoak: espermatozoidea, aneuploidia, Lagundutako Ugalketa Teknikak (LUT)

Abstract

Infertile men with a normal genetic supply (normal karyotype) may have chromosomal alterations in their sperm cells. The most frequent chromosomal alterations are aneuploidies, which are detected by FISH study, but this analysis involves the destruction of the sample. Moreover, after diagnosis, there is no alternative treatment for these patients and the main option to the man and the couple is to replace the male gamete with a sperm donor. This study aims to create novel tools to identify sperm cells with aneuploidies using proteomic techniques.

Keywords: Sperm, aneuploidy, Assisted Reproduction Techniques (ART)

1. Sarrera eta motibazioa

Antzutasuna 12 hilabetez edo gehiagoz kontrazepziorik gabe ohiko sexu-harremanak izan ondoren, haurdunaldi klinikoa ez lortzea bezala definitzen da (Zegers-Hochschild et al., 2009). Gaur egun, mundu osoan 186 milioi pertsonari eragiten dion arazo mediko eta soziala bihurtu da antzutasuna (Inhorn & Patrizio, 2015). Bikotearen arazoa den arren, jakina da kasuen % 30ek jatorri maskulino hutsa dutela, eta gainerako kasuen % 20an (arrazoi mistoak) eragina dutela. Beraz, faktore maskulinoa antzutasun kasuen erdietan inplikatuta dago.

Gaur egun, semenaren azterketa da gizonezkoaren estatus ugalkorra aztertzeko erabiltzen den tresna nagusia. Hala ere, tresna honek hainbat muga ditu, ez baitu zehazten antzutasunaren jatorria (Garrido et al., 2008). Gainera, semenaren azterketa gainditzen duten gizonezkoen artean, % 20-30ak antzutasun arazoak pairatzen jarraitzen du. Kasu askotan, Lagundutako Ugalketa Teknikek (LUT) antzutasunaren kontrako tratamendu eraginkorra suposatu duten arren, transferitutako enbrioien % 30 soilik iristen dira haurdunaldi ebolutibo batera (Macklon & Boomsma, 2010). LUTen arrakasta-tasa txiki horren arrazoi nagusietako bat, gizon antzuen diagnostikorako erreminta falta da.

Hornidura genetiko normala (kariotipo normala) duten gizonezko antzuen % 6-27k aneuploidiak izan ditzakete espermatozoideetan. Aneuploidiak alterazio kromosomiko ohikoenak dira, eta kromosoma bat edo batzuen galera (nulisomia) eta/edo irabazia (disomia) dakarte. Aneuploidien presentzia estu dago lotuta gizonen antzutasunarekin eta LUTen arrakasta-tasa txikiarekin. Gaur egun lagin espermatikoan aneuploidiak diagnostikatzeko erabiltzen den tresna

nagusia *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH) azterketa da. Teknika honetan, DNA zundak kolore ezberdinetako etiketa fluoreszenteekin markatzen dira, eta segmentu horiek sekuentzia osagarriekin bat egitean, espermatozoideen kromosomak identifikatzeko aukera ematen dute. Teknika honen eragozpen nagusia, besteak beste, azterketan erabiltzen den laginaren suntsipena da, eta ondorioz, espermatozoide aneuploideak laginetik baztertzeko ezintasuna LUTetan erabili ahal izateko. Gainera, lagin espermatikoan aneuploidien portzentaia handia detektatzen denean, ez dago adostasunik honek izan ditzakeen ondorioetan, eta bikoteari eskaintzen zaion tratamendu nagusia gameto maskulinoa semen emaile batekin ordeztea da.

Testuinguru honetan, ezinbestekoa da espermatozoideen aneuploidiak diagnostikatzeko erreminta berriak sortzea eta anomalia hauek dituzten gizonezkoen tratamendurako baliabide gehiago sortzea.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Azken urteotan, hainbat ikerketa egin dira gizonezkoen ugalkortasunean esku hartzen duten mekanismo molekularrak identifikatu eta ulertzeko. Aztertutako molekula gehienak gizonezkoen ugalkortasunarekin zeharka baino erlazionatu ez badira ere, beste batzuk zuzenean lotu dira bai ugalkortasunarekin eta baita LUTetan lortutako emaitzekin ere. Azken horien artean, estres oxidatzailearekin, apoptosiarekin edo DNAren osotasunarekin lotutako hainbat molekula nabarmentzen dira (Garrido et al., 2008; Nohales et al., 2012). Hala ere, hainbat ikerketak eta meta-analisik agerian utzi dute horietako batek ere ez duela ugalkortasun potentziala handitzen (Garrido et al., 2008; Nohales et al., 2012; Zhang et al., 2015).

Zientzia "-omikoak", hala nola, genomika, proteomika edo transkriptomika, organismo baten funtzionamenduan parte hartzen duten molekula ugari aldi berean aztertzeko aukera ematen duten zientziak dira. Zientzia hauen garapenak eta aplikazioak espermatozoideen funtzionamenduari eta prozesu biologikoetan parte hartzen duten molekulei buruzko ezagutza handiagoa lortzea ahalbidetzen ari dira. Honen ondorioz, analisi transkriptomikoak eta proteomikoak espermatozoideen ezaugarri molekularrak ugaltze arrakasta handiagoekin lotzeko erreminta erabilienetako bat bihurtu dira (Egea et al., 2014). Hala ere, teknika horietatik erator daitezkeen onurak oso urrun daude oraindik; izan ere, orain arte egindako azterlan guztiak ugalkortasunaren alderdirik orokorrenak deskribatzeari buruzkoak izan dira. Gainera, horien analisiak semen-laginak suntsitzea dakar, eta, beraz, ezingo lirateke erabili hautaketa espermatikoko markatzaile gisa.

Gaur egun, espermatozoide helduetan dauden ezaugarri morfologiko eta molekularretan oinarritzen diren hainbat metodologia daude semen laginetik espermatozoiderik onenak hautatzeko (Said & Land, 2011): 1) espermatozoideen isolamendua karga elektrikoaren bidez, 2) zelula apoptotikoen hautespen zelular immunomagnetikoa, 3) azido hialuronikoaren hartzaileak dituzten espermatozoide helduen hautaketa, 4) espermatozoideak ezaugarri morfologikoen arabera hautatzea magnifikazio handiko mikroskopio (IMSI) bidez, eta 5) espermatozoide birrefringenteen hautaketa, besteak beste. Espermatozoideak hautatzeko metodo horiek laginaren kalitatea hobetu dezaketen arren, emaitza klinikoen arabera, batek ere ez ditu hobetzen LUTen arrakasta-tasak. Gainera, hainbat desabantaila dituzte, hala nola, ekipamendu handiaren beharra, esperientzia sakonaren beharra edo entseguen iraupen luzea. Horregatik, teknika hauek ez ditu gomendatzen Munduko Osasun Erakundeak (MOE) laginen tratamendurako.

Duela urte batzuetatik hona proteomika teknikak asko hobetu dira. Espermatozoideak bereziki egokiak dira analisi mota horretarako oso eskuragarriak direlako, erraz purifikatzen direlako eta transkripzioa eta itzulpengintza inaktibatuta daudelako (Oliva et al., 2008). Analisi mota horren bidez, gizonezko ugalkorrek profil proteiko desberdina dutela ezarri ahal izan da, eta hori da gizonezkoen ugalkortasunarekin lotutako proteinak identifikatzeko lehen urratsetako bat (Martínez-Heredia et al., 2008; Oliva et al., 2008; Xu et al., 2012). Ikerketa proteomiko horietako ia guztiek, ordea, zelula barneko proteinak identifikatzen dituzte, haien erabilera diagnostiko eta/edo pronostiko baliora mugatuz.

Testuinguru honetan, ezinbestekoa da espermatozoideen ezaugarrien azterketan sakontzen jarraitzea, bai funtzioa eta bai erregulazioa ulertzeko, eta baita gizonen ugalkortasuneko biomarkatzaileak bilatzeko ere, espermatozoiderik onenak hautatu ahal izateko espermatozoideak suntsitu gabe.

Ildo honetan, lan honen ardatza proteomika diferentzialeko teknikak erabiliz aneuploidiak dituzten espermatozoideak identifikatzeko biomarkatzaile berriak aurkitzea da. Horretarako, honakoak dira lan honen **helburu nagusiak**:

1) **Espermatozoideen mintz plasmatikoko proteinak identifikatzea proteomika diferentzialeko tekniken bidez.** Horretarako, emaile emankorren, eta aneuploidiak dituzten gizonezko antzuen semen laginak erabiliko dira.
2) **Biomarkatzaile espermatiko gisa identifikatutako xede-proteinen balio klinikoa aztertzea.**

3. Ikerketaren muina

3.1 Espermatozoideen mintz plasmatikoko proteina espezifikoen bilaketa

3.1.1 Laginen inklusio-irizpideak

Gure ikerketarako erabilitako laginen inklusio irizpideak honakoak izan ziren:

- **Ugalkortasun frogatuko emaileak**: Quironsalud Bilbao Klinikako semen emaileen programako laginak lortu ziren eta indarrean dagoen legediak (14/2006 Legea, 2006) ezarritako baldintzak bete zituzten, semen-parametroak erreferentziako estandarren barruan aurkeztuta (MOE, 2021).
- **Espermatozoideetan aneuploidiak dituzten gizon antzuak:** Semen-laginak Quironsalud Bilbao Klinikatik lortu ziren. Praktika klinikoan, gizonezkoei FISH espermatikoaren azterketa egin zitzaien honako indikazio hauek zituztenean: a) jatorri ezezaguneko abortu errepikakorrak, b) faktore maskulino larria, c) LUTen porrota eta d) beste arrazoi batzuk (enbrioi-garapen txarra eta ernalketa-tasa baxua). FISH espermatikoaren azterketan alterazio-tasa handiena duten 9 kromosomak aztertu ziren.

3.1.2. Proteomika diferentziala

Espermatozoideen mintz plasmatikoko proteina espezifikoen bilaketa egiteko 10 semen emaileren eta 35 aneuploidiadun pazienteren semen laginak erabili ziren. Lehenik, bi taldeetako laginetatik proteinak erauzi ziren. Horretarako, proteasa eta fosfatasen inhibitzaileak zituen RIPA lisi medioa gehitu eta zelula homogeneizatzailearekin espermatozoideak apurtu ziren. Horren ostean, zelulak sonikatu ziren eta 15 minutuz zentrifugatu ziren proteina zatiki solugarria eta solugaitza banatzeko.

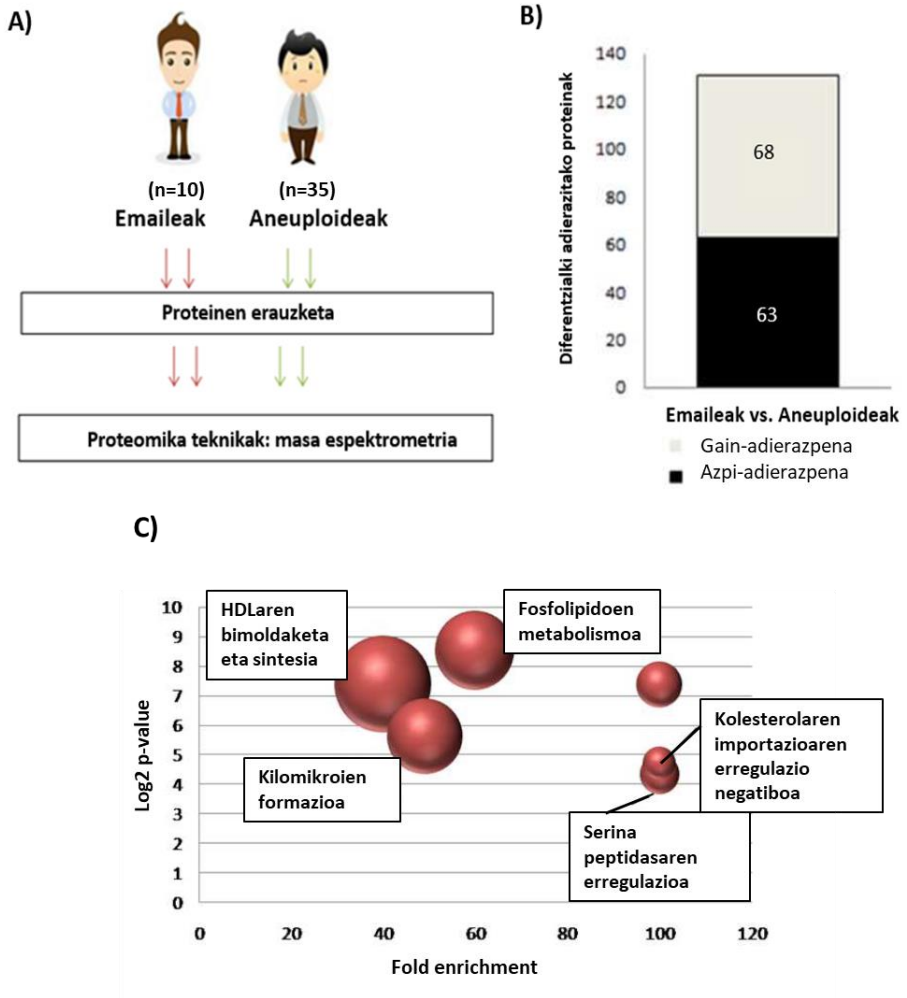
Taldeen arteko proteinak konparatzeko, proteomika kuantitatiboa egin zen, markatze isotopikoan oinarritutako Tandem Mass Tag 6-plex (TMT) erreaktiboa erabiliz. Ondoren, peptidoak zatikatu ziren eta alderantzizko faseko kromatografia likidoaren bidez bereizi ziren. Azkenik, tandem-masa espektrometria bidez aztertu ziren (LC-MS/MS) Euskal Herriko Unibertsitateko Ikerketa Zerbitzu Orokorretako Proteomika Unitatean (SGIker) **(1A Irudia)**.

Masa espektrometriatik eratorritako emaitzen estatistika egiteko eta laginen arteko ratioak kalkulatzeko Perseus programa erabili zen. Modu honetan, bi taldeen artean diferentzialki adierazitako 131 proteina aurkitu ziren, hauetako 68 gain-adierazita eta 63 behe-adierazita zeudelarik pazienteen taldean **(1B Irudia)**.

Horrez gain, gene ontologian oinarritzen diren analisiak egiteko Panther tresna informatikoa erabili zen, eta energia metabolismoarekin erlazionatutako proteinak izan ziren bi taldeen artean

aldaketa gehien pairatzen zituztenak. Konkretuki, lagin aneuploideek metabolismo lipidikoa osatzen duten proteinen gehiegizko adierazpena zutela aurkitu genuen **(1C Irudia)**.

1. Irudia. A) Ikerketako lan fluxua**. B)** Semen emaileen eta aneuploidiadun pazienteen artean diferentzialki adierazitako proteinak. **C)** Gene ontologia analisia diferentzialki adierazitako proteinak parte hartzen duten prozesu biologikoak aztertuz.

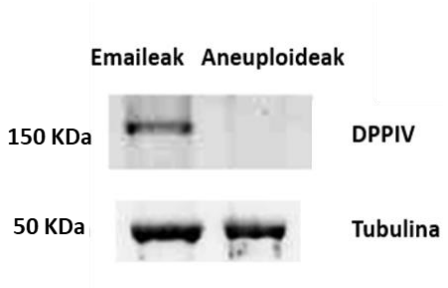


3.2 Biomarkatzaile espermatiko gisa identifikatutako xede-proteinen balio klinikoa aztertzea

Bi taldeen artean diferentzialki adierazita zeuden proteinen artean, mintzeko proteinetan zentratu genuen gure analisia, biomarkatzaile gisa baliogarria izan zitekeen proteina bat aukeratzeko. Identifikatutako mintzeko proteina guztien artean, dipeptidil-peptidasa (DPPIV) hautatzea erabaki zen, antigorputz komertziala zuelako eta taldeak harekin esperientzia zuelako. DDPIV, adenosina deaminasa proteina komplexu sortzailea 2 edo CD26 (26. bereizpen-klusterra) izenez ere ezagutzen dena, II. motako glikoproteina bat da, eta espermatozoideen gainazalean dago. Funtzio anitzeko entzima gisa jokatzen du, substratu ugari degradatuz, eta diabetesa eta obesitatea bezalako gaixotasun metabolikoekin erlazionatuta dago.

DPPIV proteinaren balio klinikoa aztertzeko, bi taldeen artean proteina honek duen adierazpen diferentziala aztertu genuen. Western blot bidez, DPPIV mintz plasmatikoko proteinak aneuploidiak dituzten espermatozoideetan bere adierazpena galtzen duela balioztatu genuen, emaileetan adierazpena mantentzen duelarik **(2.Irudia)**.

2. Irudia. DPPIV proteinaren adierazpena emaile eta aneuploideen taldeetan kontrol positiboarekiko (Tubulina).



4. Ondorioak

Espermatozoideen aneuploidiak errutinazko semen analisian aztertzen ez direnez eta hauek hautematean tratamendu eraginkorrik eskaini ezin denez, beharrezkotzat jotzen dugu diagnostiko espermatikoko teknika berriak garatzea.

Lan honetan aneuploidiak dituzten espermatozoideen eta semen emaileen mintz plasmatikoko proteinen artean desberdintasunak daudela frogatu dugu proteomika teknikak erabiliz. Gainera, aldaketak jasaten dituzten proteinen artean gehienak metabolismo energetikoarekin lotuta daudela ikusi dugu. Beraz, aneuploidiak dituzten espermatozoideetan metabolismo energetikoa asaldatuta dagoela ondoriozta dezakegu.

Bestalde, bi taldeen artean aldaketak jasan dituzten proteinei erreparatuz, DPPIV proteinaren jarrera aztertzean, aneuploidiak dituzten espermatozoideetan adierazpena galtzen duela frogatu dugu. Hau kontuan izanda, eta DPPIV espermatozoidearen mintz plasmatikoko proteina bat dela gehituz, kromosomikoki normalak diren espermatozoideak aukeratzeko biomarkatzaile gisa erabili ahal izango litzateke. Honela, lagin seminaletik espermatozoide aneuploideak baztertu ahal izango genituzke lagina suntsitu gabe eta espermatozoideetan aneuploidiak dituzten gizonezkoei lehen baliabide terapeutikoa eskainiz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Ikerketa honen bidez, espermatozoideen fisiologia gehiago ezagutzea eta hautaketa espermatikoko teknikak hobetzea dugu helburu. Gure lanetik abiatuta, kromosomikoki normalak diren espermatozoideak hautatzeko gailu mediku bat sortzeko teknologia aurkezten dugu. Gailu horrek, espermatozoideetan aneuploidiak dituzten gizonezkoentzako lehen baliabide terapeutikoa suposatuko luke eta LUTen arrakasta-tasak hobetzen lagunduko luke. Horrela, ugalketa-osasuna hobetzen eta familia-plangintza hobetzen lagunduko genioke gizarteari. Gainera, LUTen arrakasta-tasak hobetzeak pazienteen eta osasun-zerbitzu publiko eta pribatuen kostu pertsonal eta ekonomikoak murriztea eragingo luke. Guzti horrek eragin positiboa izango luke osasun, gizarte eta ekonomia mailan, prozesu terapeutikoak laburtzea eta aurrezpen ekonomikoa ekarriko bailuke.

6. Erreferentziak

Aran, B., Blanco, J., Vidal, F., Vendrell, J. M., Egozcue, S., Barri, P. N., Egozcue, J., & Veiga, A. (1999). Screening for abnormalities of chromosomes X, Y, and 18 and for diploidy in spermatozoa from infertile men participating in an in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection program. *Fertility and Sterility, 72*(4), 696-701. https://10.1016/S0015-0282(99)00307-6

Egea, R., Puchalt, N., Escrivá, M., & Varghese, A. (2014). OMICS: Current and future perspectives in reproductive medicine and technology. *Journal of Human Reproductive Sciences, 7*(2), 73-92. https://10.4103/0974-1208.138857

Egozcue, J., Blanco, J., Anton, E., Egozcue, S., Sarrate, Z., & Vidal, F. (2003). *Genetic Analysis of Sperm and Implications of Severe Male Infertility—A Review*. Elsevier BV. https://10.1016/s0143-4004(03)00186-3

Garrido, N., Garrido, N., Remohí, J., Antonio Martínez-Conejero, J., García-Herrero, S., Pellicer, A., & , M. (2008). *Garrido et al*

Inhorn, M. C., & Patrizio, P. (2015). Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Human Reproduction Update, 21*(4), 411-426. https://10.1093/humupd/dmv016

Macklon, N. S., & Boomsma, C. M. (2010). Recurrent implantation failure. *Early Pregnancy* (pp. 213-226). Cambridge University Press. https://10.1017/CBO9780511777851.021

Martínez-Heredia, J., de Mateo, S., Vidal-Taboada, J. M., Ballescà, J. L., & Oliva, R. (2008). Identification of proteomic differences in asthenozoospermic sperm samples. *Human Reproduction (Oxford), 23*(4), 783-791. https://10.1093/humrep/den024

Nohales, M., Remohí, J., Pellicer, A., & Garrido, N. (2012). *Factores moleculares de infertilidad en el espermatozoide más allá del Manual de la Organización Mundial de la Salud de 2010 Spermatozoa infertility molecular factors beyond the World Health Organization 2010 manual*

Oliva, R., Martínez-Heredia, J., & Estanyol, J. M. (2008). Proteomics in the Study of the Sperm Cell Composition, Differentiation and Function. *Archives of Andrology, 54*(1), 23-36. https://10.1080/19396360701879595

Said, T. M., & Land, J. A. (2011). Effects of advanced selection methods on sperm quality and ART outcome: a systematic review. *Human Reproduction Update, 17*(6), 719-733. https://10.1093/humupd/dmr032

Xu, W., Hu, H., Wang, Z., Chen, X., Yang, F., Zhu, Z., Fang, P., Dai, J., Wang, L., Shi, H., Li, Z., & Qiao, Z. (2012). Proteomic characteristics of spermatozoa in normozoospermic patients with infertility. *Journal of Proteomics, 75*(17), 5426-5436. https://10.1016/j.jprot.2012.06.021

Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E., & van der Poel, S. (2009). The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Human Reproduction (Oxford), 24*(11), 2683-2687. https://10.1093/humrep/dep343

Zhang, Z., Zhu, L., Jiang, H., Chen, H., Chen, Y., & Dai, Y. (2015). Sperm DNA fragmentation index and pregnancy outcome after IVF or ICSI: a meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 32*(1), 17-26. https://10.1007/s10815-014-0374-1

7. Eskerrak eta oharrak

Ainize Odriozolak doktoretza aurreko beka bat jaso zuen Eusko Jaurlaritzaren eskutik proiektu hau osatzeko. Proiektu hau Carlos III Osasun Institutuaren (SCIII), Osasun Ministerioaren eta Eusko Jaurlaritzako Osasun Sailaren laguntzekin egin zen. Proteomika teknikak SGIker-eko Analisi Zerbitzuarekin elkarlanean egin ziren.

Zelula barneko zein jariatutako CEMIPek larruazaleko fibroblastoen mugikortasuna erregulatzen du

Maria Larrinaga[1], Andrea Agüera-Lorente[1], Ainhoa Alonso-Pardavila[1], Maria Dolores Boyano[1,2], Juan Manuel Falcón-Pérez[3], Aintzane Asumendi[1,2], Aintzane Apraiz[1,2].

[1]Zelulen Biologia eta Histologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU;
[2]Biogurutzeta-Bizkaia Osasun Ikerketa Zentroa, Gurutzeta Unibertsitate Ospitalea;
[3]Exosome Laboratory, CIC bioGUNE, Basque Research and Technology Alliance (BRTA)

maria.larrinaga@ehu.eus

Laburpena

CEMIP proteinaren adierazpena hantura kronikoari lotutako egoera patologikoetan deskribatu da, minbizia kasu. Egoera horietan, CEMIP matrize estrazelularraren berrantolaketarekin eta minbiziaren progresioarekin erlazionatu da. Lan honetan, CEMIPen eragina larruazaleko fibroblastoen mugikortasunean ikertu da, larruazaleko melanomaren mikroinguruneko oinarrizko zeluletan alegia. Bai melanoma zelulek zein fibroblastoek CEMIP jariatu dezaketela zehaztu ondoren, bi zelula horiek jariatutako CEMIPek larruazaleko fibroblastoen mugikortasuna erregulatzen duela frogatu da.

Hitz-gakoak: CEMIP, larruazaleko fibroblastoak, zelulaz kanpoko besikulak, mugikortasuna, melanoma

Abstract

CEMIP is a protein with increased expression under chronic inflammation-involving conditions such as cancer, often linked to extracellular matrix remodeling and tumor progression. As shown in this work, motility of skin fibroblasts, key components of tumor microenvironment in cutaneous melanoma, was regulated by cellular CEMIP levels. Moreover, secreted CEMIP, both by fibroblasts and melanoma cells, was also able to modulate skin fibroblast migration.

Key words: CEMIP, skin fibroblasts, extracellular vesicles, migration, melanoma.

1.Sarrera/Uneko egoera

CEMIP (*Cell migration inducing, hyaluronan binding protein*, HYBID edo KIAA1199) hantura kronikoari lotutako hainbat egoera patologikotan (e.g. osteoartritisa, minbizia) emendatua azaltzen den proteina bat da (Birkenkamp-Demtroder et al., 2011; Deroyer et al., 2022). Berari lotutako funtzio nagusien artean matrize estrazelularraren (ME) eraldaketa eta zelulen mugikortasunaren kontrola daude. MEari dagokionean, CEMIPek azido hialuronikoa (HA) despolimerizatzen du (Nagaoka et al., 2015) eta fibrosia errazten du (Deroyer et al., 2022). Bestalde, jatorri epitelialeko minbizi ereduetan tumore zelulen migrazio eta inbasio ahalmenarekin lotu da (Liu et al., 2021); ondesteko minbizian, esaterako, proteina honen adierazpena gaiztotasunaren adierazle gisa deskribatu da (Xu et al., 2015). Minbiziaren garapenean berebiziko garrantzia du tumore zelulen inguruan eratzen den ekosistemak, hots, tumorearen mikroinguruneak. Bertan, hainbat zelula mota ezberdinek zein zelulen arteko komunikazio sistemek (e.g. zitokinak, zelulaz kanpoko besikulak) parte hartzen dute. Mikroinguruneko zelulen artean minbiziari lotutako fibroblastoek (ingelesezko *CAF, cancer associated fibroblasts*) sostengu funtzio garrantzitsua burutzen dute (Arneth, 2019). Minbiziaren testuinguruan, CEMIP proteinaren ikerketa tumore zeluletan zentratu den arren, osteoartritisa eta HAren inguruko lanek argi utzi dute proteina honek gaitasuna duela fibroblastoen portaera

erregulatzeko. Hala ere, egun ezer gutxi ezagutzen da tumoreko mikroingurunean CEMIPek izan dezakeen funtzioari buruz.

CEMIP ez dago soilik zelula barnean; izan ere, LaPointe eta lankideek ondesteko minbizi pazienteen serumean detektatu zuten (LaPointe et al., 2012) eta Rodrigues eta lankideek CEMIP zelulaz kanpoko besikuletan (ZKB) garraiatzen dela deskribatu zuten (Rodrigues et al., 2019). Azken lan honen arabera, ZKBen bidez garraiatutako CEMIPa gai da bularreko minbizi zelulen garuneko metastasia bideratzeko, garuna bera tumore zelulen harrerarako prestatuz. Emaitza hauen arabera, CEMIPek funtzio garrantzitsua beteko luke tumore eta mikroinguruneko zelulen arteko komunikazioan.

Larruazaleko melanoma minbizi mota erasokorrenen artean dago metastasirako joera handia izateagatik (Eddy & Chen, 2020). Testuinguru honetan, bereziki garrantzitsua da gaixotasunaren hasierako faseak eraentzen dituzten prozesuak ulertzea. Larruazaleko melanomari lotutako fibroblastoak (ingelesezko *MAF, melanoma associated fibroblasts*) mikroingurune tumoraleko zelula ugarienak dira eta beraiek jariatutako molekulak hantura kronikoa eta fibrosia iraunarazteaz arduratzen dira (Avagliano & Arcucci, 2022). Hori horrela, interesgarria litzateke jariatutako CEMIPek melanoman izan dezakeen eragina aztertzea.

2. Ikerketaren helburuak

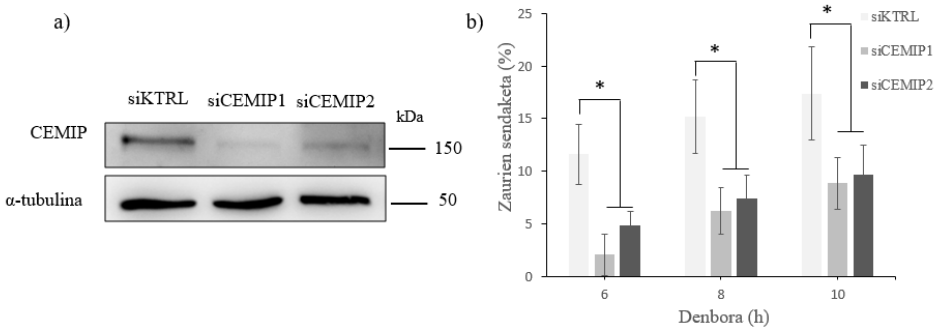
Ikerketa proiektu honen helburu nagusia da CEMIPek mikroingurune tumoraleko zeluletan, zehazki fibroblastoetan, betetzen duen funtzioa aztertzea eta bereziki, larruazaleko melanomaren testuinguruan izan dezakeen eragina deskribatzea.

3. Ikerketaren muina

3.1. Azaleko fibroblastoen migrazioa zelula barneko CEMIP mailaren araberakoa da

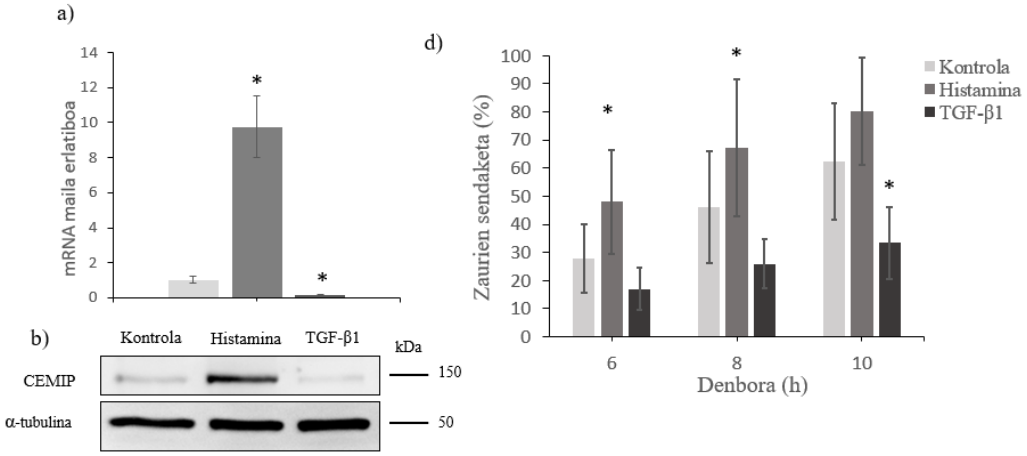
CEMIPek azaleko fibroblastoen migrazioan betetzen duen funtzioa aztertzeko Detroit551 zelula-lerroa erabili zen. Zelulak interferentziazko RNA txikiekin (siRNA) tratatu ziren 24 orduz eta beste 24 ordu ondoren (hazkuntza medio hutsean serumik gabe) isilarazpena proteina mailan baieztatu zen *western* plapaketa bidez. Esperimentuak CEMIPen aurkako 2 siRNArekin (siCEMIP$_1$ eta siCEMIP$_2$) burutu ziren, lortutako emaitzen sendotasuna bermatzeko. Aldi berean, zaurien sendaketa entsegua burutu zen: entsegu honetan, zelulen monogeruza batean zauri bat egin (200µl-ko puntekin) eta horren azaleraren murrizpena ("sendaketa") behatzen da denboran zehar. CEMIPen behin behineko isilarazpenak larruazaleko fibroblastoen migrazioa murrizten zuela behatu zen (1. irudia).

1.irudia. CEMIPen isilarazpenak larruazaleko fibroblastoen migrazio ahalmena murrizten du. Detroit551 zelulak siCEMIP$_1$ eta siCEMIP$_2$-rekin transfektatu ziren eta hauen migrazio ahalmena aztertu zen. a) Proteina mailan CEMIPen isilarazpena baieztatu zen. Karga kontrol moduan α-tubulina proteina erabili zen. b) Zaurien sendaketa entseguak azaltzen du CEMIPen isilarazpenak migrazioa murrizten duela 6, 8 eta 10 orduetara. Bi esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa siKTRLrekiko (*) $p<0,05$ bezala adierazten da.



Literaturaren arabera, histaminak zein TGF-β1ek, hanturari lotutako bitartekariek alegia, CEMIPen adierazpena igo edo inhibitzeko ahalmena dute, hurrenez hurren (Liu et al., 2023; Nagaoka et al., 2015). Testuinguru honetan, histaminak eta TGF-β1-ek fibroblastoetan duten eragina aztertu zen; zehazki CEMIPen mailan eta migrazio-ahalmenean. Histaminak CEMIP mailaren gorakadari lotutako migrazioa eragiten zuen bitartean, TGF-β1ek CEMIPen adierazpenaren beherakada eragin zuen migrazio-ahalmena murriztearekin batera (2.irudia).

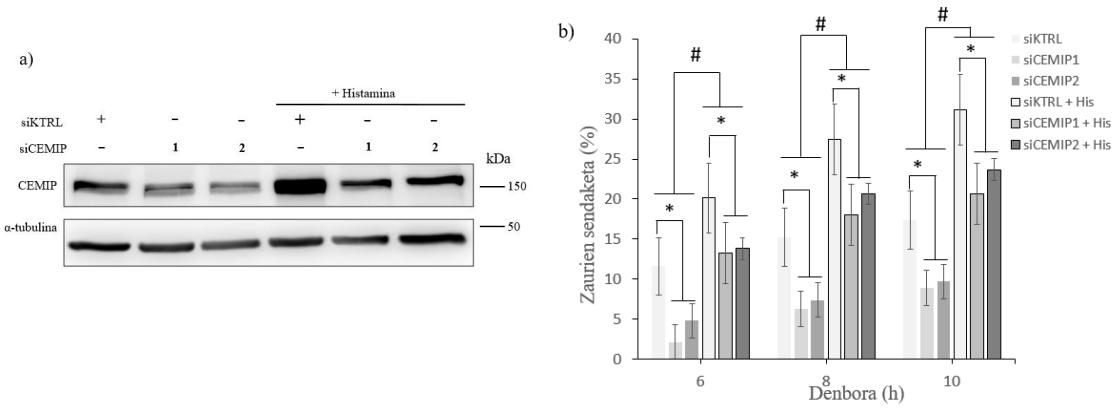
2.irudia. Histamina eta TGF-β1ek eragin kontrajarria dute zelula barneko CEMIPen adierazpenean zein azaleko fibroblastoen migrazio-ahalmenean. Detroit551 zelulak histamina (10µM) edo TGF-β1ekin (10ng/ml) tratatu ziren 24 orduz. Histaminak CEMIPen gorakada eragiten du eta TGF-β1ek, ordea, proteina kopuruaren murrizpena eragiten du a) RNAm mailan zein b) proteina mailan (α-tubulina karga kontrol moduan). d) Histaminak induzitutako CEMIPen gainadierazpenak migrazioa bultzatzen du eta TGF-β1ek migrazioa inhibitzen du. a) zein d) irudietan bi esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa siKTRLrekiko (*) *p<0,05* bezala adierazten da.



Histaminak eragindako mugikortasuna CEMIPen adierazpenarekin erlazionatuta dagoen ikertzeko, Detroit551 zelulak siRNA eta histaminarekin tratatu ziren. Histaminaz tratatutako fibroblastoetan siRNA bidez CEMIP maila jaisteak (3a irudia) horien migrazio-ahalmena murriztu zuen (3b irudia); beraz, emaitza hauek histaminaren efektua, neurri batean, zelulako CEMIP mailaren araberakoa zela iradokitu zuten (3.irudia).

3.irudia. Histaminak eragindako migrazio igoera CEMIP-mailaren araberakoa da. Detroit551 zelulak siRNArekin transfektatu (24h) eta histaminarekin (10µM) tratatu ziren beste 24 orduz. CEMIP proteinaren maila eta horrek migrazioan duen eragina aztertu ziren *western* plapaketa eta zaurien sendaketa entseguen bidez, hurrenez hurren. a) Histaminak CEMIPen maila igotzen du zeina siCEMIP bidez histamina gabeko siKTRL egoeraren parera murrizten den. Karga kontrol bezala α-tubulina erabili zen. b) siCEMIP bidezko CEMIP mailaren murrizpenak histamina-bidezko migrazio emendioa mugatzen du. Bi esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da,

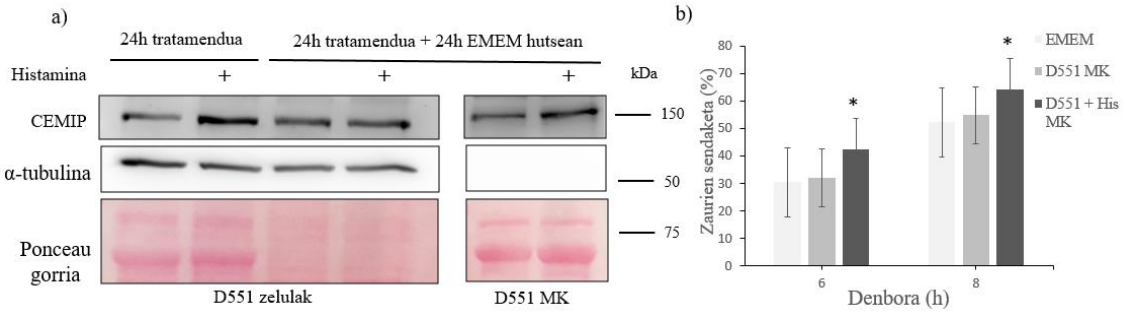
bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa siKTRL edo siKTRL + His (*) nahiz histaminarik gabeko laginekiko (#) *p<0,05* bezala adierazten da.



3.2. Azaleko fibroblastoek CEMIP jariatzen dute zelulaz kanpoko mediora eta horrek migrazioa erregulatzen du.

CEMIP kanpo mediora jariatu daitekeela deskribatu izan da (Yoshida et al., 2014). Jariatutako CEMIPak zelula barneko CEMIP mailarekin zein zelulen portaerarekin izan zezakeen harremana aztertzeko asmoarekin, larruazaleko fibroblastoak histaminarekin tratatu ziren (24 ordu) eta 24 ordu ondoren medioaren edukia aztertu zen. Histaminak zelula barneko CEMIP maila ez ezik, jariatutakoa ere emendatu zuen. Medio hori, medio kondizionatua (MK), jaso eta beste fibroblasto batzuei gehitu zitzaien; CEMIPen aberatsagoa zen MKak fibroblastoen migrazio-ahalmena bultzatu zuen (4.irudia).

4.irudia. Kanpo mediora jariatutako CEMIP gai da larruazaleko fibroblastoen migrazio-ahalmena erregulatzeko. Detroit551 (D551) zelulak histaminarekin (10µM) tratatu ziren 24 orduz eta beste 24 orduz inkubatu ziren medio hutsean. a) Histaminak zelularen CEMIP maila igotzen du 24 ordutara eta 24 ordutara oinarrizko mailara itzultzen da. Zelulako lisatuen karga kontrol moduan α-tubulina proteina erabili zen. *Ponceau* gorri bidezko irudia MK laginentzako karga kontrol moduan (mintzeko proteina guztiak markatzen ditu). b) Histaminak induzitutako CEMIP jariatua duen medioak (MK) migrazioa bultzatzen du 6 eta 8 orduetara. Hiru esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa EMEM medio bakunarekiko (*) *p<0,05* bezala adierazten da.

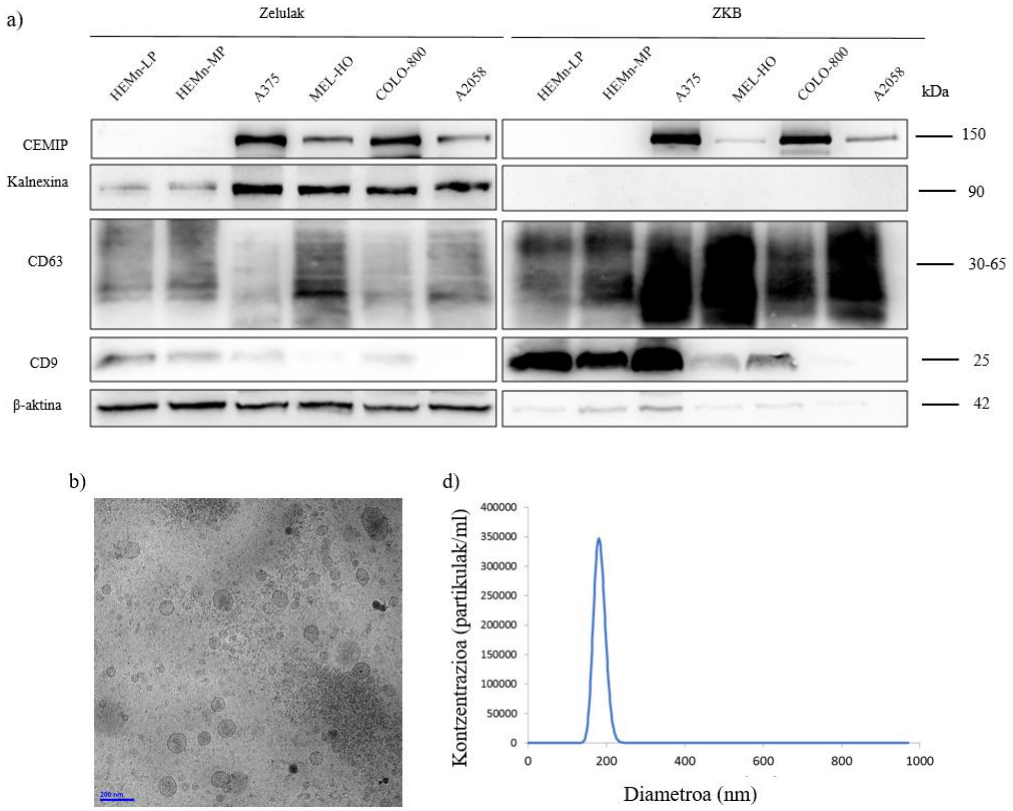


3.3. Melanoma zelulek CEMIP jariatzen dute zelulaz kanpoko besikuletan eta horrek migrazioa induzitzen/bultzatzen du larruazaleko fibroblastoetan.

Arestian aipatu bezala, minbiziaren testuinguruan CEMIPen funtzioa jatorri epitelialeko zenbait minbizietan deskribatu da batik bat, eta zelulaz kanpoko besikulen (ZKB) bidez estromako zelulen portaera eragin dezakeela frogatu da. Melanomari dagokionean, ez dago ikerketarik. Hortaz, CEMIP proteinaren maila aztertu zen melanozito eta melanoma zeluletan zein horiek jariatutako ZKBetan. Kultibo medioko ZKBak ultrazentrifugazio diferentzialaren bidez isolatu

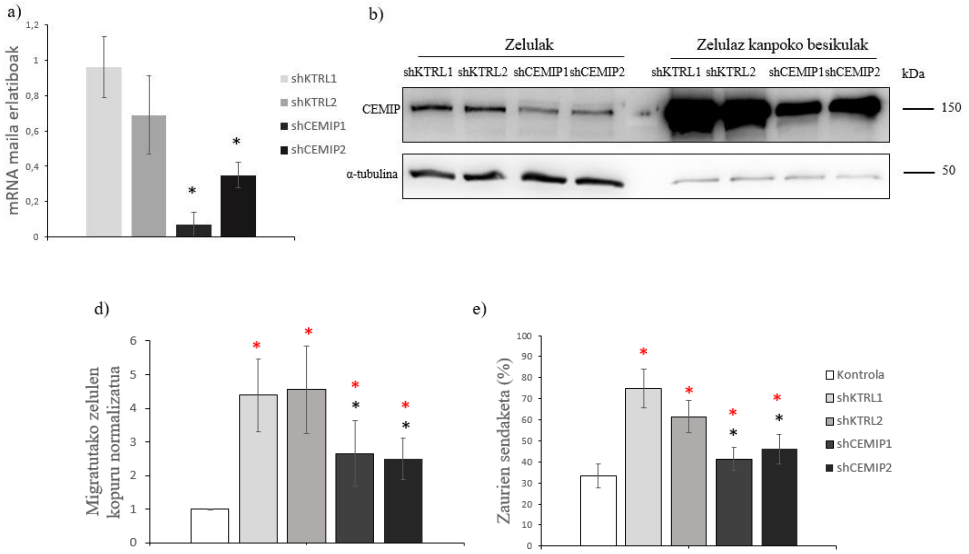
ziren eta *MISEV* (*Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles*) gida eredutzat hartu zen beraien karakterizazioa burutzeko (Théry et al., 2018); hala, ZKBen markatzaileak diren CD9 eta CD63 presentziak, kalnexinaren (ZKB txikietan jariatzen ez den proteina) ausentziak (5a irudia), kriomikroskopia (Crio-EM) bidezko azterketa morfologikoak (5b) eta NTA (ingelesezko *Nanoparticle Tracking Assay*) bidezko partikulen karakterizazioak (5d) baieztatu zuten isolatutako frakzioak tamaina txikiko (<200 nm) ZKBtan aberatsak zirela. Emaitzen arabera, melanozitoek ez dute CEMIP proteina adierazten; melanoma zelulek, ostera, proteina adierazi eta ZKBetan jariatzen dute.

5.irudia. Melanoma zelulek, baina ez melanozitoek, CEMIP adierazi eta jariatzen dute ZKBetan. Melanozito (HEMn-LP, HEMn-MP), melanoma primario (A375, MelHO) eta melanoma metastasiko (COLO-800, A2058) zelula lerroen CEMIP maila (zeluletan zein ZKBetan) aztertu zen. a) CEMIP proteina melanoma zeluletan eta ZKBetan soilik adierazten da. Karga kontrol bezala β-aktina zeluletan. b) Crio-EM mikroskopia (eskala 200 nm) eta d) NTA bidez karakterizatu ziren. ZKBek <200 nm-ko diametroa azaldu zuten.



ZKBetan garraiatutako CEMIP proteinaren funtzioan sakontzeko asmoarekin, proteina modu egonkorrean isilarazi zen (zelula zein ZKB mailan) COLO-800 zelula-lerroan shRNA (ingelesezko *short hairpin* RNA) bidez (6a eta 6b irudiak). Ondoren, lerro zelular horietatik eratorritako ZKBek fibroblastoen (Detroit551) migrazio-ahalmenaren gain izan zezaketen eragina aztertu zen zaurien sendaketa (6d) eta *Boyden* kameratxoetan (6e) oinarritutako entseguetan, zeinetan, funtsean, zelulek porodun mintz bat zeharkatu behar duten. Entsegu honetan, denbora puntu batean, mintza zeharkatu duten zelulak kontatzen dira. ZKBek, orokorrean, migrazioa bultzatu zuten kontrolarekin alderatuz (ZKB gabe trataturiko fibroblastoak). Gainera, ZKBetako CEMIP kantitatearekin loturiko ezberdintasunak ere antzeman ziren; izan ere, ZKB kontrolekin (shKTRL1 eta shKTRL2) trataturiko fibroblastoek migrazio-ahalmen emendatua azaldu zuten ZKB isilduekin ($shCEMIP_1$ / $shCEMIP_2$) konparatuta. Hortaz melanoma zelulek jariatutako ZKB barneko CEMIPek fibroblastoen migrazio-ahalmenean eragiten du.

6.irudia. Melanoma jatorria duten ZKBek larruazaleko fibroblastoen migrazioa induzitzen dute CEMIP kantitatearekiko mendekotasuna azalduz. COLO-800 zelula lerroa shRNArekin transfektatu zen CEMIP proteinaren adierazpena isilarazteko. Detroit551 zelulak melanoma jatorria duten ZKBekin inkubatu ziren zaurien sendaketaren zein *Boyden* kameratxoen entseguetan migrazio ahalmena aztertzeko. CEMIP proteina isilarazi zen a) RNAm mailan eta b) proteina mailan. Karga kontrol bezala α-tubulina erabili zen.ZKB tumoralekin inkubatutako zelulek migrazio ahalmen emendatua azaldu zuten d) zaurien sendaketa (10h) eta e) *Boyden* kameratxoen (28h) entseguetan, tratatu gabekoekin alderatuz. ZKBekin inkubatutakoen artean, ZKBen CEMIP mailarekiko mendekotasuna antzeman zen. Hiru esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa EMEM medio bakunarekiko (*) edo shKTRL1-ekiko (*) *p<0,05* bezala adierazten da.



4. Ondorioak

Lan hau CEMIP proteinak azaleko fibroblastoengan duen eraginean fokatu da. Emaitzek frogatutakoaren arabera, CEMIP proteina garrantzitsua da fibroblastoen mugikortasunean; hanturarekin erlazionatutako bitartekariak (histamina, TGF-β1) gai dira fibroblastoen CEMIP maila erregulatzeko eta honen bitartez, zelula horien migrazio-ahalmena mugatzeko. Zelula barneko CEMIP mailak ez ezik, kanpo mediotik jasotako CEMIP proteinak ere eragina du zelula ituen mugikortasunean, zeinak berebiziko garrantzia izan dezakeen melanoma bezalako tumoreek mikroingurunea eraldatzeko duten ahalmenean.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Zelula barneko CEMIPek larruazaleko fibroblastoen migrazioan duen eragina deskribatu dugun arren, argitzeke dago oraindik gertaera horren atzean dagoen mekanismo molekularra, baita fibroblastoen aktibazio prozesuan CEMIPek izan dezakeen funtzioa ere; esaterako, CEMIPek induzitutako adierazpen profila, tumorearen inbasio-, angiogenesi- zein proliferazio-ahalmenean duen eragina edo MEren osotasunari lotutako aldaketak. Era berean, melanomaren testuinguruan ZKBtako CEMIPek duen eraginaren deskribapen sakonagoa funtsezkoa da.

6. Erreferentziak

Arneth, B. (2019). Tumor Microenvironment. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *56*(1). https://doi.org/10.3390/MEDICINA56010015

Avagliano, A., & Arcucci, A. (2022). Insights into Melanoma Fibroblast Populations and Therapeutic Strategy Perspectives: Friends or Foes? *Current Medicinal Chemistry*, *29*(40), 6159–6168. https://doi.org/10.2174/0929867329666220620124138

Birkenkamp-Demtroder, K., Maghnouj, A., Mansilla, F., Thorsen, K., Andersen, C. L., Øster, B., Hahn, S., & Ørntoft, T. F. (2011). Repression of KIAA1199 attenuates Wnt-signalling and decreases the proliferation of colon cancer cells. *British Journal of Cancer 2011 105:4*, *105*(4), 552–561. https://doi.org/10.1038/bjc.2011.268

Chen, L., Shi, K., Andersen, T. L., Qiu, W., & Kassem, M. (2019). KIAA1199 is a secreted molecule that enhances osteoblastic stem cell migration and recruitment. *Cell Death & Disease*, *10*(2). https://doi.org/10.1038/S41419-018-1202-9

Chiang, J. H., Tsai, F. J., Lin, T. H., Yang, J. S., & Chiu, Y. J. (2022). Tremella fuciformis Inhibits Melanogenesis in B16F10 Cells and Promotes Migration of Human Fibroblasts and Keratinocytes. *In Vivo (Athens, Greece)*, *36*(2), 713–722. https://doi.org/10.21873/INVIVO.12757

Deroyer, C., Poulet, C., Paulissen, G., Ciregia, F., Malaise, · Olivier, Plener, Z., Gaël Cobraiville, ·, Daniel, C., Gillet, P., Malaise, M. G., & Dominique De Seny, ·. (2022). *CEMIP (KIAA1199) regulates inflammation, hyperplasia and fibrosis in osteoarthritis synovial membrane*. *79*, 260. https://doi.org/10.1007/s00018-022-04282-6

Desbois, M., & Wang, Y. (2021). Cancer-associated fibroblasts: Key players in shaping the tumor immune microenvironment. *Immunological Reviews*, *302*(1), 241–258. https://doi.org/10.1111/IMR.12982

Eddy, K., & Chen, S. (2020). Overcoming Immune Evasion in Melanoma. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(23), 1–48. https://doi.org/10.3390/IJMS21238984

Hiroyuki, X., ‡1, Y., Aoki, M., Komiya, A., Endo, Y., Kawabata, K., Nakamura, T., Sakai, S., Sayo, T., ¶2, Y. O., Takahashi, Y., & Hart, G. W. (2020a). *HYBID (alias KIAA1199/CEMIP) and hyaluronan synthase coordinately regulate hyaluronan metabolism in histamine-stimulated skin fibroblasts*. https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010457

Hiroyuki, X., ‡1, Y., Aoki, M., Komiya, A., Endo, Y., Kawabata, K., Nakamura, T., Sakai, S., Sayo, T., ¶2, Y. O., Takahashi, Y., & Hart, G. W. (2020b). *HYBID (alias KIAA1199/CEMIP) and hyaluronan synthase coordinately regulate hyaluronan metabolism in histamine-stimulated skin fibroblasts*. https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010457

LaPointe, L. C., Pedersen, S. K., Dunne, R., Brown, G. S., Pimlott, L., Gaur, S., McEvoy, A., Thomas, M., Wattchow, D., Molloy, P. L., & Young, G. P. (2012). Discovery and validation of molecular biomarkers for colorectal adenomas and cancer with application to blood testing. *PloS One*, *7*(1). https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0029059

Liu, J., Yan, W., Han, P., & Tian, D. (2021). The emerging role of KIAA1199 in cancer development and therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *138*, 111507. https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111507

Liu, M., Xie, L., Zhang, Y., Chen, J., Zhang, X., Chen, Y., Huang, W., Cai, M., Liang, L., Lai, M., Huang, J., Guo, Y., Lin, L., & Zhu, K. (2023). Inhibition of CEMIP potentiates the effect of sorafenib on metastatic hepatocellular carcinoma by reducing the stiffness of lung metastases. *Cell Death & Disease*, *14*(1). https://doi.org/10.1038/S41419-023-05550-4

Nagaoka, A., Yoshida, H., Nakamura, S., Morikawa, T., Kawabata, K., Kobayashi, M., Sakai, S., Takahashi, Y., Okada, Y., & Inoue, S. (2015). Regulation of Hyaluronan (HA) Metabolism Mediated by HYBID (Hyaluronan-binding Protein Involved in HA Depolymerization, KIAA1199) and HA Synthases in Growth Factor-stimulated Fibroblasts. *The Journal of Biological Chemistry*, *290*(52), 30910. https://doi.org/10.1074/JBC.M115.673566

Pach, E., Kümper, M., Fromme, J. E., Zamek, J., Metzen, F., Koch, M., Mauch, C., & Zigrino, P. (2021). Extracellular Matrix Remodeling by Fibroblast-MMP14 Regulates Melanoma Growth. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(22). https://doi.org/10.3390/IJMS222212276

Rodrigues, G., Hoshino, A., Kenific, C. M., Matei, I. R., Steiner, L., Freitas, D., Kim, H. S., Oxley, P. R., Scandariato, I., Casanova-Salas, I., Dai, J., Badwe, C. R., Gril, B., Tešić Mark, M., Dill, B. D., Molina, H., Zhang, H., Benito-Martin, A., Bojmar, L., … Lyden, D. (2019). Tumour exosomal CEMIP protein promotes cancer cell colonization in brain metastasis. *Nature Cell Biology*, *21*(11), 1403–1412. https://doi.org/10.1038/S41556-019-0404-4

Romano, V., Belviso, I., Venuta, A., Ruocco, M. R., Masone, S., Aliotta, F., Fiume, G., Montagnani, S., Avagliano, A., & Arcucci, A. (2021). Influence of Tumor Microenvironment and Fibroblast Population Plasticity on Melanoma Growth, Therapy Resistance and Immunoescape. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(10). https://doi.org/10.3390/IJMS22105283

Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., Atkin-Smith, G. K., Ayre, D. C., Bach, J. M., Bachurski, D., Baharvand, H., Balaj, L., Baldacchino, S., Bauer, N. N., Baxter, A. A., Bebawy, M., … Zuba-Surma, E. K. (2018). Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *Https://Doi.Org/10.1080/20013078.2018.1535750*, *7*(1).

Wu, F., Yang, J., Liu, J., Wang, Y., Mu, J., Zeng, Q., Deng, S., & Zhou, H. (2021). Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts and targeted therapy for cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy 2021 6:1*, *6*(1), 1–35. https://doi.org/10.1038/s41392-021-00641-0

Xu, J., Liu, Y., Wang, X., Huang, J., Zhu, H., Hu, Z., & Wang, D. (2015). Association between KIAA1199 overexpression and tumor invasion, TNM stage, and poor prognosis in colorectal cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, *8*(3), 2909–2918.

Yoon, D., Yoon, D., Sim, H., Hwang, I., Lee, J. S., & Chun, W. (2018). Accelerated Wound Healing by Fibroblasts Differentiated from Human Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Pressure Ulcer Animal Model. *Stem Cells International*, *2018*. https://doi.org/10.1155/2018/4789568

Yoshida, H., Nagaoka, A., Nakamura, S., Tobiishi, M., Sugiyama, Y., & Inoue, S. (2014). N-terminal signal sequence is required for cellular trafficking and hyaluronan-depolymerization of KIAA1199. *FEBS Letters*, *588*(1), 111–116. https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2013.11.017

7. Esker onak eta oharrak

Ikerketa honen emaitzak Maria Larrinagaren, Andrea Agüera-Lorenteren eta Ainhoa Alonso-Pardavilaren doktoretza tesiaren ondorio dira. Maria Larrinagak Espainiako Minbiziaren Aurkako Elkartearen doktoretza aurreko dirulaguntza jaso du (PRDVZ222424LARR). Andrea Agüera-Lorentek Eusko Jaurlaritzaren doktoretza aurreko dirulaguntza jaso du (PRE_2018_1_0323). Ainhoa Alonso-Pardavilak *Investigo* dirulaguntza jaso du, Europar Batasunak-*Next Generation EU*k finantziatua. Ikerketa taldeak Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Saileko (PIBA_2018_1_0073 eta IT1524-22) dirulaguntza jaso du.

Bektore ez-biral lipidikoak garatzeko erabiltzen diren teknikak eta hauen garrantzia etorkizunerako

Ivan Maldonado Pérez[1,2,3]; Jon Zarate Sesma[1,2,3]; Gustavo Puras Ochoa[1,2,3]; Lucia Enriquez-Rodriguez[1,3]; Idoia Gallego Garrido[1,2,3]; Mohamed Mashal[1]; Noha Attia[1]; José Luis Pedraz Muñoz[1,2,3].

1. NanoBioCel taldea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) Vitoria-Gasteiz, Espainia.
2. Bioingeniaritza, Biomaterial eta Nanomedikuntzako Ikerketa Zentroa (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Espainia.
3. Bioaraba, NanoBioCel Resarch Group, Vitoria-Gasteiz, Espainia

joseluis.pedraz@ehu.eus

Laburpena

Azken urteotan, bektore ez-biral lipidikoak oso aintzatetsiak izan dira COVID gaixotasunerako garatu diren txerto berriei esker. Hori dela eta, artikulu honetan, gure ikerketa-taldean lantzen ditugun bi bektore ez-biral motak azaltzen ditugu: niosomak eta partikula lipidikoak. Horien ekoizpenerako mikrofluidika eta sonikazio metodoak erabiltzen ditugu, eta aipatutako formulazioen aktibitatean metodo bakoitzak duen eragina erakusten dugu. Azkenik, formulazio berri horien oraingo eta etorkizuneko aplikazioak aipatzen ditugu, medikuntzaren arloan ekarri ditzaketen aurrerapenak azpimarratuz.

Hitz gakoak: Bektore ez-biral lipidikoak, Material genetiko, Sonikazio, Mikrofluidika

Abstract

In recent years, non-viral lipid vectors have gained important recognition thanks to the new vaccines that have been developed for COVID. For this reason, in this article we wanted to refer to the two types of vectors that we work with in our research group, niosomes and lipid particles. Focusing on their production processes, we will show the importance of microfluidic and sonicator methods in the activity of these formulations. Finally, we will mention the present and future applications of these new formulations, highlighting their potential to become one of the major advances in medicine.

Keywords: Non-viral lipid vectors, Genetic material, Sonication, Microfluidics

1. Sarrera eta motibazioa

Gaur egun, COVID-19aren ondorioz, RNA mezulariaren txertoak ezagunak egin dira (Pfizer® edo Moderna®) (Sainz-Ramos, M. et al., 2021). Txerto horien osagaietan bektore ez-biral lipidikoak daude. Bektore ez-biral lipidikoek osagai kationikoak daramatzate azido nukleikoa garraiatzeko, eta generikoki liposomak deitzen zaie. Bektore mota seguruenak dira; azido nukleikoa garraiatzeko bektore biralek baino ahalmen handiagoa dute, eta eskala handian fabrikatzeko errazagoak dira. Horiek garatzerakoan transfekzio ahalmen handiena ematen dieten lipidoak aukeratzen dira. Gure laborategian niosomak eta partikula lipidikoak garatzen ditugu:

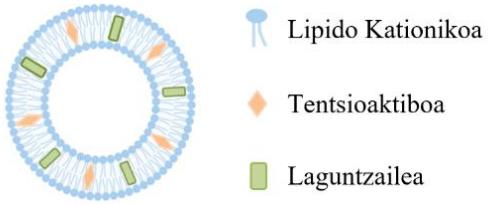
- Niosomek kanpotik karga positiboa duen geruza lipidiko bikoitza dute. Horrela, negatiboki kargatutako azido nukleikoarekin (material genetikoa) batzen dira elkarrekintza elektrostikoari esker. Niosomek honako osagai hauek dituzte (A. Grijalvo et al. 2019)(1. irudia):

    - Lipido kationikoa: besikularen geruza lipidiko bikoitzeko osagai nagusia da; karga positiboa ematen dio, eta azido nukleikoarekin lotzeko ezinbestekoa da.

    - Tentsioaktiboa: besikulari egonkortasuna ematen dio eta niosomaren toxikotasuna murrizten du. Tentsioaktibo hauek ez dute karga ionikorik, horregatik murrizten dute toxikotasuna.

    - Laguntzailea: lipido kationikoarekin eta tentsioaktiboarekin elkartuz emultsifikatzen du. Niosomaren transfekzio ahalmenean, morfologian eta mintzaren iragazkortasunean eragiten du osagai honek.

1. Irudia: Niosomen egitura nagusia



- Nanopartikula lipidikoak (LNP): hainbat motatako lipidoz osatutako besikulak dira. LNPek material genetikoa barnean paketatuta garraiatzen dute, eta honako osagai hauez osatuta daude (Jung, H. et al., 2022) (Irudia 2):

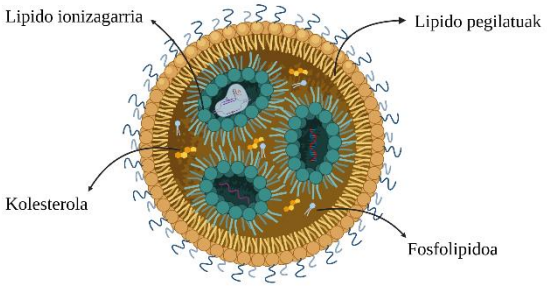
    - Lipido ionizagarria: formulazioaren osagai nagusia da, eta material genetikoa paketatzen du.

    - Fosfolipidoak: nanopartikularen egituraren euskarriak dira, eta zelula barneko endosomatik ihesa errazten dute.

    - Kolesterola: fosfolipidoen antzera, kolesterolak endosomatik ihes egiten lagunduko dio LNPri.

    - Lipido pegilatuak: LNPan geruza hidrofilikoa osatzen du, eta molekulak oso handiak direnez, nanopartikularen tamaina handitzen dute immunitate sistematik ihes egiteko gaitasuna emanez.

2. Irudia: Nanopartikula lipikoen (LNP) egitura nagusia material genetiko mota ezberdinak eta CRISPR-Cas9 garraiatzen.



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Sendagai berriak diseinatzeko, hiru printzipio hartu behar dira kontuan: kalitatea, segurtasuna eta eraginkortasuna. Artikulu honetan bektore ez-biral lipidikoak egiteko tekniketan jarriko dugu arreta, zehazki, sonikazioan eta mikrofluidikan:

- Sonikazioa: teknika honen bidez niosomak prestatzen ditugu.
- Mikrofluidika: LNPak egiteko erabiltzen diren mikrofluidika metodoak aipatuko ditugu eta laborategian erabiltzen dugun metodoa aztertuko dugu.

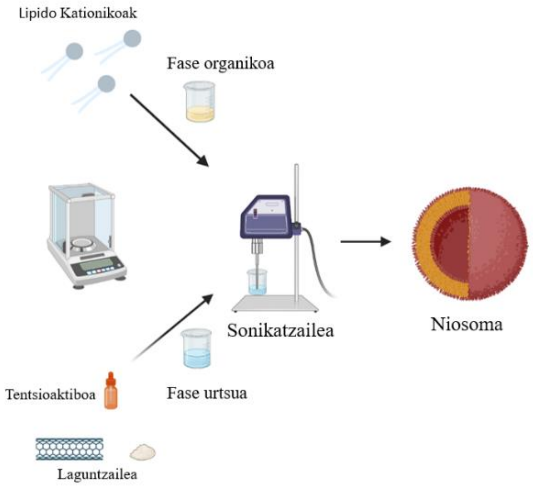
Teknikak azaldu ondoren alderatu egingo ditugu, eta, horretarako, teknika bakoitzarekin lortutako formulazio bakoitzaren abantailak eta desabantailak adieraziko ditugu. Gainera, formulazioak karakterizatzeko entseguak deskribatuko ditugu, eta, azkenik, niosomen eta LNPen aplikazioak aipatuko ditugu.

3. Ikerketaren muina

3.1. Niosomak garatzeko teknika: sonikazioa

Teknika honetan fase organiko bat eta fase urtsu bat nahastu eta ultrasoinuen bitartez sonikatu egiten dira (3. Irudia). Honako hau litzateke prozedura: lehenik eta behin, lipido kationikoa gehitzen da aurrez diklorometanoarekin garbitutako prezipitatu-ontzi batean; ondoren, osagai laguntzailea gehitzen da aurreko prezipitatu-ontzi berean, eta jarraian diklorometanoa gehitzen zaio gasentzako kanpaian. Horrela fase organikoa eratzen da. Fase urtsua eratzeko aldiz, tentsioaktiboa uretan disolbatzen da kontzentrazio txikian (%1etik behera). Jarraian, bi faseak sonikatzailearekin 30 segundoz 50 W-era sonikatzen dira. Azkenik, diklorometanoa lurruntzen uzten da .

3. Irudia: Sonikazio metodoa

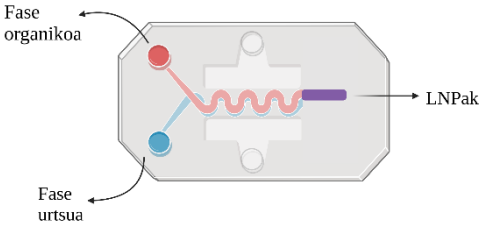


3.2 Mikrofluidika

Mikrofluidikaren bidez LNPak egiten dira. Horretarako fase organiko bat (lipido kationikoa eta LNP osatzen duten gainerako osagai lipidikoak dituena) material genetikoa duen fase urtsu batekin nahasten da. Faseen nahasketak egiteko hainbat metodo erabili daitezke. Fase organikoa fase urtsuarekin kontaktuan jartzeko erabiltzen den fluxuaren arabera, LNPen tamaina eta polidispertsioa ezberdina izango da. Jarrain mikrofluidikan oinarritutako metodo ezberdinak (Maeki, M. et al., 2022):

- LNPak egiteko erabili ziren lehen makinek T edo Y konformazio sinpleak dituzte azken aldian garatutako nahasgailu kaotikoekin (4. Irudia) eta iLiNP tresnekin konparatuz. Horien desabantaila honako hau da: etanolaren eta fase urtsuaren arteko hedapena oso motela dela, eta, beraz, LNP handiak sortzen direla.
- Nahasgailu kaotikoak: metodo hauetan fluxuaren kontrola konformazio sinpleko makinetan baino handiagoa da. Gainera, nahasketa azkarra ahalbidetzen du, nahiz eta emaria handia izan. Gure laborategian erabiltzen dugun tresna NanoAssemblr® Ignite™ da (4. Irudia), eta LNPak sortzeko zatiketa eta birkonbinazioko mikronahasgailu plano asimetrikoa (*planar asymmetric split-and-recombine micromixers*) dauka. Metodo honi esker fase organikoaren eta fase urtsuaren arteko nahasketa hobea da, eta sortzen diren LNPak homogeneoak eta bikoizgarriak dira.

4. Irudia: NanoAssemblr® IgniteTM tresna eta bere mekanismoaren eskema



- iLiNP tresnak: erabiltzen duten metodoa T do Y konformazioa daukaten makinen antzekoa da, baina kasu honetan emaria handiagoa denez, bi faseen hedapena azkarrago gertatzen da. Era berean, emaria kontrolatuz ezaugarri ezberdinetako LNPak lortu daitezke.

3.3 Bektore ez-biralen karakterizazio fisiko-kimikoa

Ekoitzitako nanopartikulen kalitate kontrolerako karakterizazio fisiko-kimikoa oso garrantzitsua da. Bektore ez-biral lipidikoen tamaina, polidispertsioa eta gainazaleko karga (zeta potentziala) neurtzeko ondorengo metodoak erabiltzen ditugu:

- Argi dispertsio dinamikoa (DLS) (Ojeda et al.,2016): metodo honen bidez partikula tamaina zehazten da laser batekin Browndar higidura neurtuz. Atomoek edo molekulek ausazko mugimenduen bidez duten energia termikoa energia zinetikoan bihurtzen dute eta Browndar higidura sortzen da. Higidura hau partikula esekien tamainarekiko alderantziz proportzionala da, eta, beraz, zenbat eta handiagoa izan Browndar higiduraren balioa, orduan eta txikiagoa izango da partikulen tamaina. (1. Taula)
- Zeta potentziala (ζ): parametro honek nanopartikulen gainazaleko karga elektrikoa adierazten du. Karga hori negatiboa, neutroa edo positiboa izan daiteke. (1. Taula).

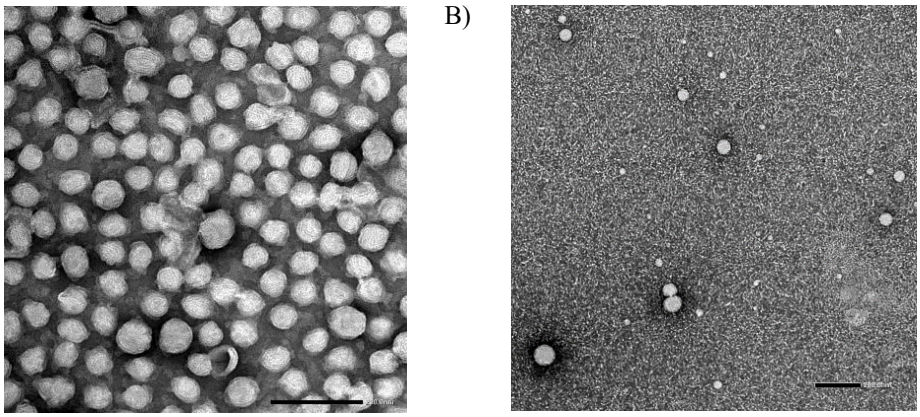
1. Taula: Laborategian ekoitzitako Niosomen eta LNP tamainaren, polidispertsioaren eta zeta potentzialaren balioak bere desbiderapen estandarekin (STD)

	Tamaina (nm)		PDI		Zeta (ζ) (mV)	
	Batez besteko	STD	Batez besteko	STD	Batez besteko	STD
Niosoma	113,06	1,68	0,207	0,01	52,53	2,19
LNP	72,05	2,88	0,200	0,03	-4,87	0,82

- Transmisioko mikroskopia elektronikoa (TEM): laginak bistaratzeko elektroiak erabiltzen dituen mikroskopia optikoak ez bezala, TEMak fotoiak erabiltzen ditu, eta 0,2 nm arteko egiturak bistaratzea ahalbidetzen du (5. Irudia).

5. Irudia: LNP (A) eta niosomak (B) TEM mikroskopioa erabiliz ateratako argazkiak

A) B)



Gure helburua 50-150 nm bitarteko nanopartikula homogeneoak (polidispertsio baxua) sortzea da. Niosomen kasuan karga positiboa izatea bilatzen dugu karga negatiboa duen azido nukleikoarekin elkartzeko; LNPetan aldiz, azido nukleikoa nanopartikularen barruan doanez, karga neutroa izatea interesatzen zaigu. 1. Taulako hiru parametro horiek ondo karakterizatzea garrantzitsua da azido nukleikoaren transfekzioan eragin dezaketelako. Era berean, mikroskopia elektronikoaren bitartez nanopartikulen forma eta egitura ondo ezagutu behar da. Hori guztia kontutan izanik, jakin baikenezake transfektatu beharreko zelula mota bakoitzarentzako nanopartikula egokienak zeintzuk diren eta horiek ekoizteko teknika egokiena zein den. Mikrofluidika oso teknika berria denez transfekzioa helburu duten ikerketetan, ikerketa lan gutxi aurkitu ditzakegu. Bestalde, sonikazioarekin eratutako nanopartikulekin esperientzia handiago dago transfekzioa helburu duten ikerketetan (Sainz-Ramos, M. et al., 2021).

4. **Ondorioak**

Sonikazio eta mikrofluidika bidezko teknikak bektore ez-biral ezberdinak sortzeko erabiltzen direla ikusi dugu. Horrez gain, teknika horiek beste zenbait abantaila eta desabantaila dauzkate. Mikrofluidika teknika erreproduzigarria da, prozesua automatizatuta dagoelako. Sonikazioan aldiz, prozesua manuala denez, erreproduzigarritasun txikiagoa dauka.

Bestalde, sonikazio bidezko teknika egoerara moldagarriagoa da. Izan ere, sonikatzaile bat bakarrik behar da, eta testuinguru klinikoan adibidez, edozein ospitaletan bektore ez-biralak sonikazioz ekoitzi ahalko lirateke. Mikrofluidikak aldiz, eskakizun gehiago ditu: tresna espezifikoak behar dira, laborategi farmazeutikoak berea propioa daukate eta egin beharreko inbertsioa handiagoa da. Beraz, ospitale batean horrelako tresna bat jartzeko muga gehiago dago.

Azkenik, artikulu honetan azaldu dugun bezala, hainbat dira transfekziorako nanopartikulak ekoizteko prozesuan eragiten duten aldagaiak (formulazioaren osagaiak, nanopartikulen ezaugarri fisiko-kimikoak, transfektatu nahi diren zelulak, …). Ondorioz, nanopartikula ekoizteko teknikaren aukeraketa ere aipatu baldintza horiek kontutan izanda egin behar da. Argi dagoena da, teknika horiek medikamentu berritzaileak garatzeko ahalmen handiagoa ematen digutela. Gakoa teknika bakoitzaren abantailak helburutzat dugun aplikaziorako aprobetxatzea da.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Bektore ez-biral lipidikoak egiteko teknika ezberdinen garapenari esker aukera gehiago izango dugu sendagai berritzaileak garatzeko. Besteak beste, mRNA oinarri duten txertoak (COVID-19aren aurkako txertoaren parekoak) garatu ahalko dira, edota oinarri genetikoa duten fibrosi kistikoa bezalako gaixotasun arraroen terapia genikoko medikamentuak. Duela urte batzuk ezinezkoa zirudiena, gaur egun posible da sonikazioa eta mikrofluidika bezalako tekniken garapenari esker, eta seguru gaude, etorkizunean ere, teknika berriak asmatuko direla terapia aurreratuko medikamentuen garapenaren mesedetan.

6. Erreferentziak

Sainz-Ramos, M., Gallego, I., Villate-Beitia, I., Zarate, J., Maldonado, I., Puras, G., & Pedraz, J. L. (2021). How Far Are Non-Viral Vectors to Come of Age and Reach Clinical Translation in Gene Therapy? International Journal of Molecular Sciences, 22(14), 7545. 10.3390/ijms22147545

A Grijalvo, S., Puras, G., Zárate, J., Sainz-Ramos, M., Qtaish, N. A. L., López, T., Mashal, M., Attia, N., Díaz, D., Pons, R., Fernández, E., Pedraz, J. L., & Eritja, R. (2019). Cationic Niosomes as Non-Viral Vehicles for Nucleic Acids: Challenges and Opportunities in Gene Delivery. MDPI AG. 10.3390/pharmaceutics11020050

Jung, H. N., Lee, S., Lee, S., Youn, H., & Im, H. (2022). Lipid nanoparticles for delivery of RNA therapeutics: Current status and the role of in vivo imaging. Ivyspring International Publisher. 10.7150/thno.77259

Maeki, M., Uno, S., Niwa, A., Okada, Y., & Tokeshi, M. (2022). Microfluidic technologies and devices for lipid nanoparticle-based RNA delivery. Journal of Controlled Release, 344, 80-96. 10.1016/j.jconrel.2022.02.017

Ojeda E, Agirre M, Villate-Beitia I, et al. Elaboration and Physicochemical Characterization of Niosome-Based Nioplexes for Gene Delivery Purposes. Methods Mol Biol. 2016;1445:63-75

7. Eskerrak eta oharrak

Proiektu hau Espainiako Zientzia eta Berrikuntza Ministerioak babestu zuen (PID2019-106199RB-C21 beka). Egileek eskerrak eman nahi dituzte “NANBIOSIS” ICTSren laguntza intelektual eta teknikoagatik; zehazki, Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) Bioingeniaritza, Biomaterial eta Nanomedikuntzako CIBERen Medikamentuen Formulazio Unitatearena (U10).

Epe luzerako ondorioak loki-lobuluko epilepsia sagu-eredu baten garunean

Garazi Ocerin[1,2], Ilazki Anaut-Lusar[1,2], Amaia Mimenza[1,2], Leire Lekunberri[1,2], Maitane Serrano[1,2], Edgar Soria-Gómez[1,2,3], Inmaculada Gerrikagoitia[1,2],Irantzu Rico-Barrio[1,2], Nagore Puente[1,2], Jon Egaña-Huguet[1,2], Izaskun Elezgarai[1,2], Pedro Grandes[1,2]

(*1) Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia), (2)Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHUko Zientzia Parkea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia, (3) Ikerbasque,* Basque Foundation for Science

gocerin003@ikasle.ehu.eus

Laburpena

Loki-lobuluko epilepsia helduetan ematen den epilepsia mota ohikoena da. Eskuragarri dauden farmakoek neuronen gehiegizko kitzikagarritasuna murrizten duten arren, beti ez dira eraginkorrak izaten. Gaur egungo ikerketak gaitzean aktibatutako mekanismo neuroinflamatorioen kontrolean oinarritzen dira. Hartara, garuneko zelula ez neuronalak eta sistema endokannabinoidea itu terapeutiko gisa proposatu dira. Izan ere, neuroinflamazioarekin erlazionaturik dauden glia zelulek kannabinoide hartzaileak adierazten dituzte. Ikerketa honetan, glia zelula eta kannabinoide sisteman gertatutako aldaketak eta burmuinean zehar erasandako eskualdeak aztertu dira loki-lobuluko epilepsia sagu ereduan. Era ohargarrian, aldaketa anatomiko hauek kognizio (oroimenean) eta emozio-egoeretan (antsietatea) eragina dute.

Hitz gakoak: loki-lobuluko epilepsia; astrozitoak; mikroglia; CB1 hartzailea

Abstract

Temporal lobe epilepsy is the most common type of epilepsy in adults. Although available anticonvulsants reduce the excessive neuronal excitability, they are not always effective. Nowadays research focuses on the control of neuroinflammatory mechanisms switched on in epilepsy. Hence, non-neuronal brain cells and the endocannabinoid system have emerged as potential targets because the role of this system in neuroinflammation mediated by cannabinoid receptor-expressing glial cells. We show changes in glial cells and the cannabinoid 1 (CB1) receptor, the main target of endogenous and exogenous cannabinoids, throughout brain regions in a mouse model of temporal lobe epilepsy. Remarkably, these anatomical changes impact on cognition (memory) and behavioral states (anxiety).

Keywords: temporal lobe epilepsy; astrocytes; microglia; CB1 receptor

1. Sarrera eta motibazioa

Munduko Osasun Erakundearen arabera, 50 miloi pertsona inguruk pairatzen dute epilepsia gaitza, asaldura neurologiko ohikoena izanik. Hortaz, garrantzizko osasun arazotzat hartu beharra dago (Cheung et al., 2019; Victor et al., 2020).

Helduen epilepsia mota ohikoenen artean loki-lobuluko epilepsia (LLE) dago. Asaldura honen jatorria askotarikoa izan daiteke; faktore genetikoez gain, burmuin-hodietako istripuak, infekzioak eta garun lesio traumatikoak barne hartzen dituena (Cheung et al., 2019).

Egungo konbultsioen aurkako farmakoak neuronek jasango luketen asalduran ardazten dira. Baina sintomatologia arintzea lortu dezaketen arren, ez dute gaitzaren garapena, hau da, prozesu epileptogenoa, eteten (Binder et al., 2021). Zehazki, epilepsian gertatzen den neuronen gehiegizko kitzikagarritasun maila gutxitzen oinarritzen dira hauek, konbultsio maila murriztea ahalbidetuz.

Hala ere, paziente orok ez diote tratamenduari modu egokian erantzuten. LLE pairatzen duten pazienteen herenak egun merkatuan dauden farmakoekiko erresistenteak dira. Horren eraginez, epilepsia kronikoan, kaltea jatorrizko foku epileptikoez at, eremu zehatzetara zabaltzeko arriskua dago (Toro-Pérez et al., 2020). Prozesu horren bilakaera zeharo ezezaguna da gaur gaurkoz. Gainera,

mugatu ezin diren konbultsio horiei, pazienteen egunerokotasuneko bizitzan gaitz kognitiboek duten munta gaineratu behar zaie (Dai et al., 2021).

Epileptogenesia murriztuko luketen farmakoak garatzea beharrezkotzat jotzen da, hartara. Hala ere, bitartekaritza eta bilakaera mekanismoak, oraindik, ez dira guztiz ezagunak (Binder et al., 2021). Azken urteetako ikerketek adierazi dute epilepsian izaera anitzeko zelula-moten funtzionamendu bateratu ezegokia gertatzen dela, non inflamazio prozesuak berebiziko garrantzia duen (Eyo et al., 2017; Morin-Brureau et al., 2018; Sanz et al., 2020).

Epilepsia gaixotasunaren konplexutasuna ikusiz, azken urteetan, bere tratamendurako itu terapeutiko berriak bilatze aldera, espektro zabaleko eragina duen endokannabinoide sisteman jarri da arreta. Sistema hori epilepsiaren estrategia terapeutiko berritzaile eta itxaropentsutzat jotzen da (Sugaya et al., 2022). Izan ere, endokannabinoide sistema neuromodulatzailea izateaz gain, inflamazio prozesuetan parte hartzen duela ikusi da.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Garunaren funtzionaltasun egokia eman dadin, zenbait zelula mota espezializaturen elkarreragina ezinbestekotzat jotzen da. Orain arteko ikerkuntza gehienak neuronen arteko harremanean (sinapsia) oinarritu dira. Sinapsiak kimikoak edo elektrikoak izan daitezke. Sinapsi kimikoan bulkaden garraioa substantzia kimiko endogenoen askapenaren bidez egiten da (neurotransmisoreak). Sinapsi aurreko neuronan askatzen diren neurotransmisore horiek, sinapsi ondorengo neuronen hartzaileetara lotuko dira. Alegia, neurotransmisoreak neuronen edo beste zelula mota batzuen arteko seinaleak garraiatzen, indartzen eta modulatzen dituzte dagokien ituan jardun ondoren. Prozesu horri neurotransmisioa deritzo (Squire et al., 2012).

Epilepsia gaitzean neuronen gehiegizko aktibitatea dela eta, neurotransmisio kitzikatzailea (glutamatoa, batez ere) areagotzen da eta, ondorioz, neurotransmizio kitzikatzaile eta inhibitzailearen (γ–aminobutiratoa: GABA) arteko desoreka gertatzen da (1. irudia) (Andoh et al., 2020; Victor et al., 2020).

Gaitz horri aurre egiteko bestelako jomuga terapeutikoak ikertze asmoz, zenbait lanek sistema endokannabinoidean jarri dute arreta. Izan ere, sistema endokannabinoideak transmisio sinaptikoaren mekanismo homeostatiko gisa parte hartzen du (Navarrete et al., 2014).

Endokannabinoideak sinapsi ondorengo neuronetatik askatzen dira tarte sinaptikora eta sinapsi aurreko neuronan aurkitzen diren CB1 hartzaile kannabinoideak kitzikatzen dituzte; beharren arabera, gehiegizko glutamato edo GABA bezalako neurotransmisore nagusien askapena inhibitzeko. Orokorrean, sinapsi kitzikatzaileetan endokannabinoide seinaleztapenak glutamatoaren askapena inhibitzen du (1. irudiko “a” atala) eta sinapsi inhibitzaileetan, aldiz, GABA askapena inhibituz kitzikagarritasuna sustatzen du (Sugaya et al., 2022).

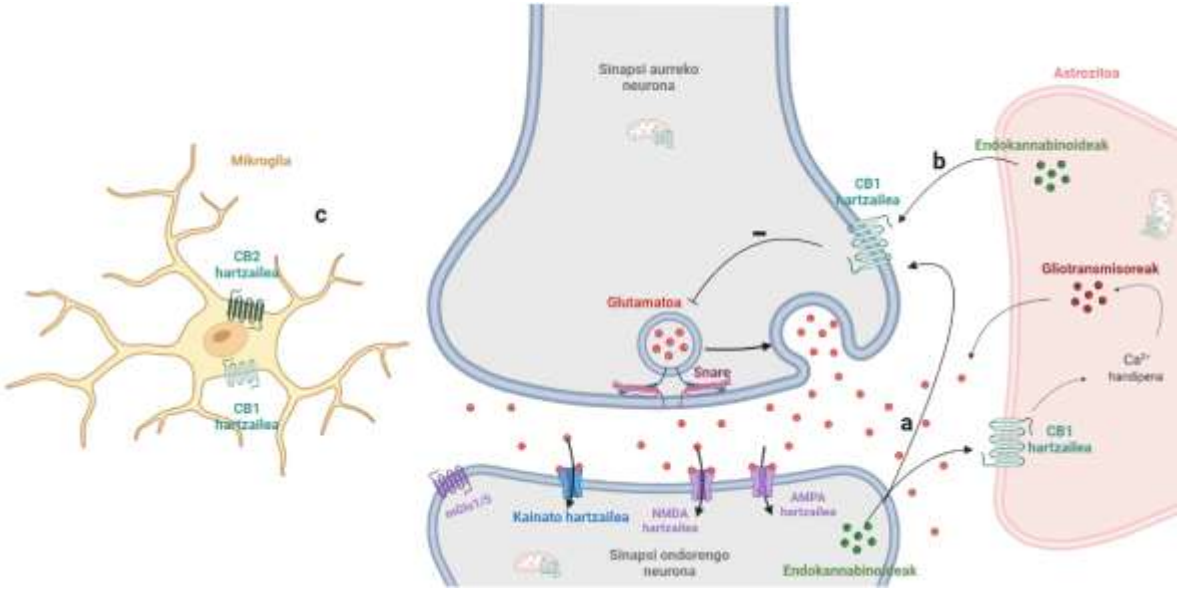
Epilepsia gaitzean, hartara, kannabinoide sisteman eragitea gehiegizko kitzikagarritasun hori kontrolatzeko aukera terapeutiko egokia izan daitekeela iradoki da. Kannabinoide endogenoen askapenaren bitartez (anandamida edo arakidoniletanolamida (AEA), eta 2-arakidonilglizerola (2-AG) eikosanoideak), gehiegizko aktibitate neuronala modulatuko litzateke kannabinoide hartzaileen gain eragin ostean (1. irudia) (nagusiki, ingelesetik *cannabinoid receptor type 1*; CB1R) (Rosenberg et al., 2017). Hala nola, transmisio sinaptiko kitzikatzailearen inhibizio iragankorra gertatzen da (1. irudiko “a” atala) (Sugaya et al., 2022).

Neurona-neurona arteko erlazioaz gain, orain dela urte gutxira arte neuronen egitura, metabolismo eta elikadura euskarritzat hartu izan diren glia zelulak berebiziko indarra hartzen hasi dira ikerketan. Hala nola, astrozitoak eta mikroglia, besteak beste (Eyo et al., 2017; Sanz et al., 2020).

Astrozitoak dira horien artean ugarienak. Glia zelula hauek neurotransmisoreen hartzaile funtzionalak adierazten dituztela frogatu zenetik, sinapsien partaide gisa gailentzen ari dira (1. irudiko “b” atala) (Navarrete et al., 2014).

Horren harira, CB1 hartzaileak nagusiki neuronen sinapsi aurreko bukaeretan aurkitzen direla aipatu arren, maila baxuagoan sinapsi osteko eremuan zein astrozitoetan (1. irudiko "b" atala) aurki daitezke (Meng et al., 2014; Rosenberg et al., 2015; Stella et al., 2010).

Astrozitoetan zentraturiko ikerketek frogatu dutenez, estimulaturiko neuronagatik askaturiko endokannabinoideek hurbileko astrozitoetako CB1 hartzaileak aktibatzen ditu. Horrek glutamato askapena eta ondorengo sinapsi ondorengo neuronen glutamato hartzaileen aktibazioa, eta aldameneko neuronetako transmisio sinaptikoaren indartze iragankorra bultzatzen du (1. irudiko "b" atala) (Navarrete et al., 2014). Beraz, astrozitoetan adierazten diren hartzaileak kitzikatzeak, hiperkitzikagarritasuna emendatu dezake. Hala ere, gaur gaurkoz, ez da ezagutzen kitzikapen horrek epilepsian izan dezaketen ondorioa.



1. **Irudia**. Endokannabinoide sistemaren antolaketa nerbio-sistema zentralean. Sinapsi ondorengo neuronan glutamatoa bere hartzaileak diren kainato, mGlu1/5, NMDA eta AMPA hartzaileari lotzen zaie informazio sinaptiko kitzikatzailea bideratuz. CB1 hartzaileak neuronen bukaera sinaptikoetan eta astrozitoetan adierazten dira. Neuronen sinapsi osteko eremutik eta astrozitoetatik endokannabinoideak ekoitz daitezke. Endokannabinoide horiek sinapsi aurreko CB1 hartzailean eragiterakoan neurotransmisore askapena murriztuko da, gehiegizko kitzikagarritasuna murriztuz. Astrozitoetako CB1 hartzaileak kitzikatzerakoan, aldiz, urruneko eremuetako glutamato askapena emendatu daiteke, eta beraz kontrako efektua bultzatu. Mikroglia zelulek CB2 eta CB1 hartzaileak adieraz ditzaketela ikusi da. Irudia *BioRender* deritzon irudi eta ilustrazio zientifikoko aplikazioa erabiliz egin da.

Astrozitoez gain, aipatzekoa da epilepsian gertatzen den neurona endekapenak bultzatuko mikrogliaren (zelula fagozitikoen) aktibazioa (Sanz et al., 2020).

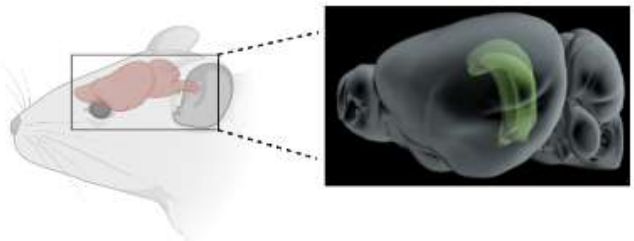
Astrozito eta mikrogliaren aktibazioak zuzenean du zerikusi epilepsia gaitzean gertatzen den inflamazioarekin. Izan ere, inflamazioan askatzen diren zitokinek eta kimiozinek mikroglia aktibatzen dute erantzun immune primario gisa. Epilepsiaren kasuan gertatzen den neurona endekapenak, era berean, mikrogliaren aktibazioa dakarrela ikusi da. Mikroglia aktibatu horrek astrozitoen erreakzioa bultzatuko du eta sorgin gurpil baten gisara, astrozito erreaktiboak mikroglia aktibatuko duten osagaiak ekoitziko dituzte, prozesua kronifikatuz (Sanz et al., 2020). Mikrogliak ere kannabinoide hartzaileak dituela frogatu da eta hartzaile horietan eraginez mikrogliaren morfologian eragin daitekeela frogatu da (CB1 eta CB2 hartzaileak) (Ruiz de Martín Esteban et al., 2022; Terradillos et al., 2023)

Horren harira, epilepsiaren aurkako nazioarteko elkarteko Europako batzordeak (ingelesezko, *European Comission of the International League Against Epilepsy*) inflamazioak konbultsioen eta epileptogenesiaren garapenean izan dezakeen eginkizunari buruzko lanak aintzat hartu ditu, ikerketen lehentasun gorenena izatea azpimarratuz (Sanz et al., 2020).

Hau guztia kontuan izanik, etorkizunean kannabinoideetan oinarritutako itu terapeutikoak diseinatze aldera, garrantzitsua da epilepsian glia zeluletan eta kannabinoide sisteman gertatzen diren aldaketak ondo ezagutzea.

Horiek horrela, loki-lobuluko epilepsiaren animalia eredua erabiliz, epe luzera asaldatuta agertzen diren eskualdeak xehatuko dira ondorengo lanean, fokua glia zelula eta endokannabinoide sisteman jarriz. Zehazki, astrozitoak, mikroglia eta CB1 hartzailea aztertuko dira. Horrez gain, kaltetutako eskualdeak portaera aldaketekin erlazionatu daitezkeen aztertuko da.

3. Ikerketaren muina



2. **Irudia**. Sagu baten garunean hipokanpoa (loki-lobuluko eremu neuroanatomikoaren baitan) hiru dimentsiotan adierazita. *The allen brain atlas* eta *BioRander* aplikazioetatik eskuratutako eta moldaturiko irudiak.

Eremu epileptogeno primarioa (2. irudia) loki-lobuluan aurkitzen den animalia-eredua sortze asmoz, kainatoaren eredua hautatu zen. Loki-lobuluan aurkitzen den eremu neuroanatomikoan, hipokanpoan, azido kainikoarekiko (glutamatoaren analogo bat) afinitate handidun hartzaile glutamatergikoak adierazten dira (1. irudia) (Eyo et al., 2017). Horren eraginez, eremu neuroanatomiko horrek jasango du kalterik nabariena.

Azido kainikoak dagokion hartzaile glutamatergikoarekin elkarreragitearen ondorioz (1. irudia), neurotransmisio kitzikatzailea (glutamatoa) handituko da, inhibizio (GABA) eta kitzikapenaren oreka hautsiz eta, hartara, konbultsioak bultzatuz. Hau da, epileptogenesi prozesua martxan jarriko da.

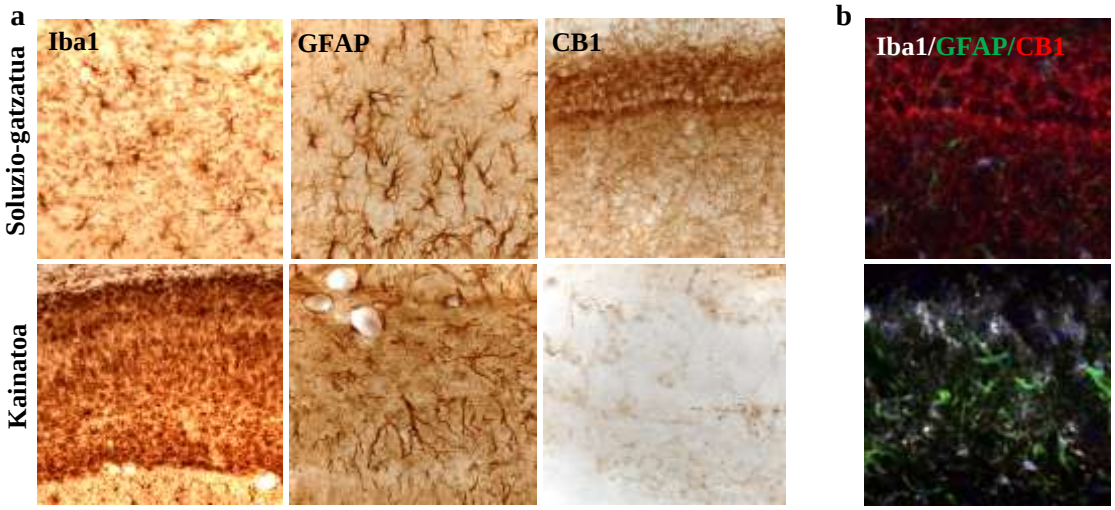
Epilepsia gaitzean neurotransmisio desorekak eragindako konbultsioen larritasuna, Racine-eskala (RE) erabiliz ebaluatu zen. Racine-eskala horretan zazpi maila xedatzen dira, azido kainikoaren administrazioaren ondoren saguek nozitzen dituzten sintometan oinarritzen dena (Racine, 1972). Ikerkuntza honetarako erabilitako animaliek 3.mailatik gorako eraginak pairatu zituzten (RE > 3).

Kainatoaren aplikaziotik epe luzera (hila batetara, zehazki) neuroinflamazio markatzaileetariko batzuk (astrozito eta mikroglia) eta sistema endokannabinoidearen elementu nagusia den CB1 hartzailearen adierazpen maila aztertu zen hipokanpoan (3. irudia) eta beste zenbait garun eremuetan. Horretarako, antigeno-antigorputz erreakzioan oinarritzen diren bi teknika immunohistokimiko erabili ziren; bat fluoreszentzian oinarritutakoa eta bestea DAB kromogenoan oinarritutakoa (abidina-biotina peroxidasa teknika). Hala nola, antigorputz horiek adierazten dituzten zelulak markatuta agertuko zaizkigu teknika horien bitartez.

Mikroglia aktiboa agerian jartzeko, Ionizatutako Kaltzioari lotzeko egokitze-molekula 1 (ingelesetik, *Ionized calcium binding adaptor molecule 1*; Iba1) deritzon antigorputza erabili zen. Astrozito erreaktiboak markatzeko, aldiz, gliaren zuntz-proteina azidikoa 1 (ingelesetik, *glial fibrillary acidic protein*; GFAP) antigorputza. Azkenik, 1 motako hartzaile kannabinoiderako, 1 motako hartzaile kannabinoidea (ingelesetik, *cannabinoid receptor type-1*; CB1) ezagutzen duen antigorputza erabili zen.

Aldaketa nabarmenenak loki lobuluko hipokanpo formazioak erakutsi zituen (3. irudia). Hipokanpoan Iba1ek agerian jartzen zuen mikroglia aktiboa. Era berean, GFAPk azaleratzen duen astrozito erreaktibo kopurua ere handia zen. CB1 hartzaileari dagokionez murrizketa sakona ikusi zen. Aldaketa horiez gain, Iba1 markaketa hipokanpotik kanpo, bestelako eskualde zehatzetara zabaltzen

zela azaleratu zen; hala nola, kortex eskualde zehatzetara eta talamora. GFAP bidezko astrozitoen markaketa biziari dagokionez, Iba1 markaketa erakusten duten eremu berdinean atzeman ziren, baina Iba1k baino eremu zabalagoak hartuz. CB1 hartzailearen aldaketa nabarienak (CB1 hartzailearen murrizpena), hipokanpora mugatzen ziren (3. Irudia). Oro har, LLE kronikoan neuroinflamazioa hipokanpoaz gaindiko eremu neuroanatomikoetara hedatzen zela ikusi zen.

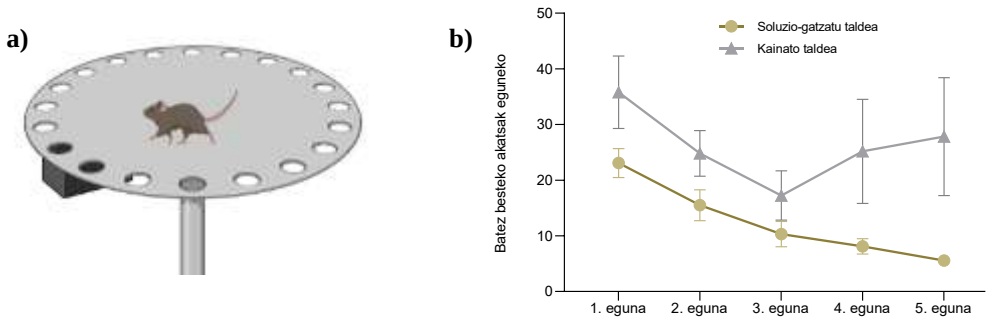


3. **Irudia.** Iba1, GFAP eta CB1 hartzaile markaketak gune epileptogeniko primarioan (hipokanpoan). Kainato ereduan glia zelulen morfologia aldaketa nabaria eta CB1 hartzailearen muturreko murrizketa atzeman daiteke. Irudietan antigeno-antigorputz erreakzioan oinarritzen diren teknika bi adierazten dira; zehazki: a) abidina-biotina peroxidasa teknika eta b) immunofluoresentzia. Aldaketak estatistikoki esanguratsuak izan ziren ($p < 0,05$).

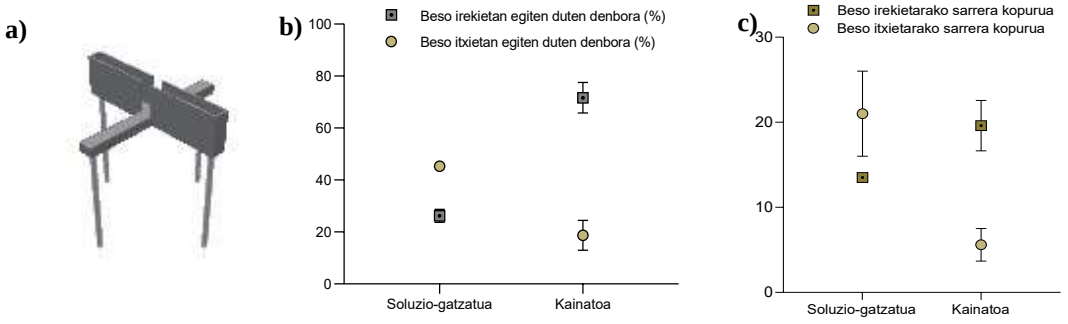
Azido kainikoaren LLE ereduan kaltetutako eremuak aztertu ondoren, erasandako eskualde horiek portaerarekin zer nolako eragina izan zezaketen aztertu zen. Horretarako, Barnes eta gurutze goratuaren labirintoaren probak egin ziren (4 eta 5. irudietako "a" atalak).

Barnes labirintoa (BL) deritzonak (4. irudiko "a" atala), lan-memoria espaziala, erreferentzia espazialaren memoria (epe labur eta/edo luzekoa) eta malgutasun kognitiboa neurtzea ahalbidetzen duen labirintoa da. 20 zulotako mahai goratu bat da, non erreferentzia optikoak jartzen diren animaliak ihes kutxa aurki dezan. Gurutze goratuaren labirintoa (5. irudiko "a" atala), ostera, karraskarietan herstura-portaerak neurtzeko probari deritzo (Walf et al., 2007); karraskarientzako eragile antsiogenikoak diren eremu goratuak ditu eta (Carola et al., 2002). Labirintoa bi beso irekiz (eremu antsiogenikoagoa) eta bi beso itxiz (babes eremua) osatuta dago (5. irudia).

BL probari dagokionez, kainato taldeak, soluzio-gatzatu taldearekin alderatuz gero, akats gehiago egiten zituela ikusi zen. Akats kopurua egunak pasa ahala, kainato taldean handitzen zihoan (4. irudia).



4. **Irudia**. **Barnes labirintoaren proba**. a) BLren eskema grafikoa eta b) BL proban egunak aurrera egin ahala gertatzen diren batez besteko akatsak. Analisi estatistikorako Kruskal Wallis testa erabili zen. Azkeneko eguneko aldaketak estatistikoki esanguratsuak izan ziren ($p < 0,05$).



5. **Irudia**. **Gurutze goratuaren labirintoaren proba.**. a) Gurutze goratu labirintoaren eskema grafikoa, b) beso ireki eta itxietan igarotzen duten denbora eta c) beso bakoitzerako sarrera kopurua. Analisi estatistikorako Kruskal Wallis testa erabili zen. Aldaketak estatistikoki esanguratsuak izan ziren ($p < 0,05$).

Gurutze goratuaren labirintoaren probari dagokionez, berriz, aintzat hartzekoa da kainato taldeak beso irekietan igarotako denbora tarte luzea. LLE sagu ereduak beso irekiak hobesten ditu, soluzio-gatzatu taldearekin alderatuz. Era berean, animalia hauek beso bakoitzera duten sarrera kopuruan joera bera ikusten da (5. irudia).

4. Ondorioak

Ikerketa honetan agerian geratu da LLEan epe luzera (30 egunetara) gertatzen diren aldaketak glia zeluletan zein kannabinoide sisteman gertatzen direla. Aldaketa larrienak, LLEaren foku primarioan gertatzen dira (hipokanpoan, hain zuzen ere). Bertan mikroglia eta astrozitoetan gertatzen diren aldaera morfologikoak muturrekoak dira, zeina glia zelulen aktibazioaren adierazleak diren. Muturreko gliosi hori jasaten duten eskualdeek CB1 hartzailearen murrizketa nabarmena erakusten dutela ere behatu da; CB1 hartzailea adierazten duten neuronen heriotzaren isla izan daitekeena edo, aitzitik, gehiegizko kitzikagarritasunaren ondorioz gertatutako espresio murrizketa. Zalantza horiek ikertzear daude. Gune primario hortaz gain, ikerketa honek epilepsia foku berriak garatu daitezkeela aditzera eman du. Izan ere, loki lobulutik kanpoko eremu neuroanatomiko zehatzetan maila txikiagoko erreakzio gliala atzeman da.

Zenbait lanek aditzera eman badute ere gaitzaren hasieran gertatzen den gliosia onuragarria izan daitekeela, neurrigabeko gliosi erreaktiboak, gehiegizko inflamazioa, heriotza neuronala eta ehun kalteak sor ditzake (Patel et al., 2019). Oro har, ikerketa honen emaitzek, egokiro kontrolatua ez den epilepsiak (kronikoak) izan dezakeen eragin kaltegarria azaleratzen dute.

Arestian aipatu bezala, konbultsioen aurkako egungo farmakoek neuronen gehiegizko kitzikagarritasuna moteltzen duten arren, ez dute prozesu epileptogenoa (gaitzaren garapena) eragozten (Rosenberg et al., 2015; Binder et al., 2021). Mugatu ezin diren konbultsio hauei, bestalde, pazienteen egunerokotasuneko bizitzan gaitz kognitiboek duten munta gaineratu behar zaie (Dai et al., 2021). Izan ere, LLEan antsietatea eta depresioa bezalako gaitz psikiatrikoez gain, narritadura kognitibo, ikaskuntza eta portaera narritadurak ere agertzen dira maiz (Vinti et al., 2021); pazienteen bizi-kalitatea nabarmen okertuz.

Gure ikerketan behatutako portaera aldaketak adierazi dutenez, saguek hipokanpoarekin erlazionaturiko narritadura kognitiboak izaten dituzte; batez ere, memoria espazialean islatzen dena. Hala ere, animalia hauek memoria galerak izateaz gain, bestelako ezohiko portaerak aurkezten dituzte. Alegia, oldarkortasun handiagoa. Zentzu horretan, lortu ditugun portaera frogen emaitzak ere bat datoz hipokanpoaz gain behatu ditugun eskualde erasotuekin (Bryant et al., 2020; Kummer et al., 2020). Hau da, hipokanpo formazio den foku primario horretatik hedatzen den gehiegizko kitzikagarritasunak gune berriak hartzen ditu eta, horrek, eragina du animalien portaeran.

Gizakietan ikusitako portaera nahasteak bat datoz neuroinflamazioa agertzen duten gune neuroanatomiko horiekin. Oro har, LLE hipokanpoko patologia bezala gailentzen bada ere, hipokanpoko sare epileptogenikotik haratagoko zirkuituen arteko lotura erabakigarrien presentzia eta eraginak aintzat hartu behar dira aurrerantzean.

Modu horretan, LLE gaitza agertzen den aldian, kaltearen garapen geldi ezina ematen denez, gune epileptogeniko primarioen garapena eta sekundarioen agerrera saihestea jomuga terapeutiko interesgarria izan daiteke. Pazienteen egunerokotasuneko bizitzan sortuko liratekeen oztopo kognitiboak mugatzea ahalbidetuz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

LLE sagu garunean mikroglia, astrozito eta CB1 hartzailearen aldaketak ikusi dira epe luzera. Hala ere, erabiliko teknikek ez dute sistema endokannabinoidearen parte den CB1 hartzailearen kokapena zehazten. Hala nola, CB1 hartzailearen aldaketak neuronei edo glia zelulei dagozkien zehazteko, ultraegitura mailako azterketak egingo dira mikroskopia elektronikoaren bidez.

Horrez gainera, kannabinoideetan oinarrituriko farmakoak erabiliz (Epidolex ®, esaterako), neuroinflamazioak eta gehiegizko aktibitate neuronalak bere onera egingo lukeen aztertuko da.

6. Erreferentziak

Andoh, M., Ikegaya, Y., & Koyama, R. (2020). Microglia modulate the structure and function of the hippocampus after early-life seizures. *Journal of pharmacological sciences*, *144*(4), 212–217. https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.09.003

Binder, D. K., & Steinhäuser, C. (2021). Astrocytes and Epilepsy. *Neurochemical research*, *46*(10), 2687–2695. https://doi.org/10.1007/s11064-021-03236-x

Bryant, K. G., & Barker, J. M. (2020). Arbitration of Approach-Avoidance Conflict by Ventral Hippocampus. *Frontiers in neuroscience*, *14*, 615337. https://doi.org/10.3389/fnins.2020.615337

Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research*, *134*(1-2), 49–57. https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00452-1

Cheung, K. A. K., Peiris, H., Wallace, G., Holland, O. J., & Mitchell, M. D. (2019). The Interplay between the Endocannabinoid System, Epilepsy and Cannabinoids. *International journal of molecular sciences*, *20*(23), 6079. https://doi.org/10.3390/ijms20236079

Dai, Y., Song, Y., Xie, J., Xu, S., Li, X., He, E., Yin, H., & Cai, X. (2021). In Vivo Microelectrode Arrays for Detecting Multi-Region Epileptic Activities in the Hippocampus in the Latent Period of Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Micromachines*, *12*(6), 659. https://doi.org/10.3390/mi12060659

Eyo, U. B., Murugan, M., & Wu, L. J. (2017). Microglia-Neuron Communication in Epilepsy. *Glia*, *65*(1), 5–18. https://doi.org/10.1002/glia.23006

Kummer, K. K., Mitrić, M., Kalpachidou, T., & Kress, M. (2020). The Medial Prefrontal Cortex as a Central Hub for Mental Comorbidities Associated with Chronic Pain. *International journal of molecular sciences*, *21*(10), 3440. https://doi.org/10.3390/ijms21103440

Meng, X. D., Wei, D., Li, J., Kang, J. J., Wu, C., Ma, L., Yang, F., Zhu, G. M., Ou-Yang, T. P., Liu, Y. Y., & Jiang, W. (2014). Astrocytic expression of cannabinoid type 1 receptor in rat and human sclerotic hippocampi. *International journal of clinical and experimental pathology*, *7*(6), 2825–2837.

Morin-Brureau, M., Milior, G., Royer, J., Chali, F., Le Duigou, C., Savary, E., Blugeon, C., Jourdren, L., Akbar, D., Dupont, S., Navarro, V., Baulac, M., Bielle, F., Mathon, B., Clemenceau, S., & Miles, R. (2018). Microglial phenotypes in the human epileptic temporal lobe. *Brain : a journal of neurology*, *141*(12), 3343–3360. https://doi.org/10.1093/brain/awy276

Navarrete, M., Díez, A., & Araque, A. (2014). Astrocytes in endocannabinoid signalling. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, *369*(1654), 20130599. https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0599

Patel, D. C., Tewari, B. P., Chaunsali, L., & Sontheimer, H. (2019). Neuron-glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. *Nature reviews. Neuroscience*, *20*(5), 282–297. https://doi.org/10.1038/s41583-019-0126-4

Racine R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, *32*(3), 281–294. https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0

Rosenberg, E. C., Tsien, R. W., Whalley, B. J., & Devinsky, O. (2015). Cannabinoids and Epilepsy. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, *12*(4), 747–768. https://doi.org/10.1007/s13311-015-0375-5

Rosenberg, E. C., Patra, P. H., & Whalley, B. J. (2017). Therapeutic effects of cannabinoids in animal models of seizures, epilepsy, epileptogenesis, and epilepsy-related neuroprotection. *Epilepsy & behavior : E&B*, *70*(Pt B), 319–327. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.006

Ruiz de Martín Esteban, S., Benito-Cuesta, I., Terradillos, I., Martínez-Relimpio, A. M., Arnanz, M. A., Ruiz-Pérez, G., Korn, C., Raposo, C., Sarott, R. C., Westphal, M. V., Elezgarai, I., Carreira, E. M., Hillard,

C. J., Grether, U., Grandes, P., Grande, M. T., & Romero, J. (2022). Cannabinoid CB_2 Receptors Modulate Microglia Function and Amyloid Dynamics in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Frontiers in pharmacology*, *13*, 841766. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.841766

Sanz, P., & Garcia-Gimeno, M. A. (2020). Reactive Glia Inflammatory Signaling Pathways and Epilepsy. *International journal of molecular sciences*, *21*(11), 4096. https://doi.org/10.3390/ijms21114096

Stella N. (2010). Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia*, *58*(9), 1017–1030. https://doi.org/10.1002/glia.20983

Sugaya, Y., & Kano, M. (2022). Endocannabinoid-Mediated Control of Neural Circuit Excitability and Epileptic Seizures. *Frontiers in neural circuits*, *15*, 781113. https://doi.org/10.3389/fncir.2021.781113

Squire, L., Berg, D., Bloom, F. E., Du Lac, S., Ghosh, A., & Spitzer, N. C. (Eds.). (2012). *Fundamental neuroscience*. Academic press.

Terradillos, I., Bonilla-Del Río, I., Puente, N., Serrano, M., Mimenza, A., Lekunberri, L., Anaut-Lusar, I., Reguero, L., Gerrikagoitia, I., Ruiz de Martín Esteban, S., Hillard, C. J., Grande, M. T., Romero, J., Elezgarai, I., & Grandes, P. (2023). Altered glial expression of the cannabinoid 1 receptor in the subiculum of a mouse model of Alzheimer's disease. *Glia*, *71*(4), 866–879. https://doi.org/10.1002/glia.24312

Toro-Pérez, J., Suller-Martí, A., Herrera, M., Bottan, J., & Burneo, J. G. (2020). Epilepsia del lóbulo temporal plus: revisión [Temporal plus epilepsy: a review]. *Revista de neurologia*, *71*(6), 225–233. https://doi.org/10.33588/rn.7106.2020339

Victor, T. R., & Tsirka, S. E. (2020). Microglial contributions to aberrant neurogenesis and pathophysiology of epilepsy. *Neuroimmunology and neuroinflammation*, *7*, 234–247. https://doi.org/10.20517/2347-8659.2020.02

Vinti, V., Dell'Isola, G. B., Tascini, G., Mencaroni, E., Cara, G. D., Striano, P., & Verrotti, A. (2021). Temporal Lobe Epilepsy and Psychiatric Comorbidity. *Frontiers in neurology*, *12*, 775781. https://doi.org/10.3389/fneur.2021.775781

Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*, *2*(2), 322–328. https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44

7. Eskerrak eta oharrak

Lan honek hainbat erakunderen diru laguntza izan du: Eusko Jaurlaritza (IT1230-19); Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd), Instituto de Salud Carlos III (ISC-III RD21/0009/0006) eta Europar Batasunaren Europako Eskualde Garapenerako Funtsa (ERDF-EU; RD16/0017/0012); MINECO/FEDER, UE (SAF2015-65034-R); Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-107548RB-I00); ESG doktoreak Ikerbasque eta MINECO funtsa (MICIU/AEI/FEDER-EU; PGC2018-093990-A-I00); MS eta LLren Euskal Herriko Unibertsitateko doktoratu aurreko ikertzaileen kontratuak (PIF 19/164; PIF 18/315) eta AMren Eusko Jaurlaritzako doktoratu aurreko ikertzaile kontratua.

Morfinak hipometilazio globala eragiten du mES zeluletan autoerregulazioa daukan demetilazio aktibo baten bidez

Manu Araolaza, Iraia Muñoa-Hoyos, Ainize Odriozola, Irune Calzado, Malen Zabala, Nerea Subirán

Medikuntza eta Erizaintza Fakultateko Fisiologia Departamentua (UPV/EHU)

manu.araolaza@ehu.eus

Laburpena

Ingurumen-faktoreek osasun-arazoak edota gaixotasunak sortzen dituzte, baino hori nola ematen den ezezaguna da. Orain arteko ikerketa gehienek adierazi dutenez, eraldaketa epigenetikoek funtzio gakoa bete dezakete prozesu horretan, bien arteko lotura puntua izanik. Morfinak, esaterako, plazenta-hesia modu erraz batean zeharkatu dezake, eta, ondorioz, enbrioiaren ohiko garapenean nabarmen eragiten du; hodi neurala, kortex frontala eta bizkarrezur-muinaren garapenak ukituta geratzen dira, nerbio-sistemaren garapen egokia oztopatuz. Hortaz, DNAren metilazioa enbrioi-garapenean giltzarri den eraldaketa epigenetikoa dela aintzat hartuz, metilazioak morfinaren presentzian izan dezakeen eginkizuna argitzea da gure helburua nagusia, eta horretarako azken belaunaldiko teknikez baliatu gara.

Hitz gakoak: morfina, garapena, hipometilazio globala, autoerregulazio-mekanismoa.

Abstract

Environmental factors cause health problems and/or disease, but how it occurs is unknown. Most of the research carried out so far has indicated that epigenetic transformations can play a key role in this process, being the point of connection between both. Morphine, for example, can easily cross the placenta, which significantly affects the normal development of the embryo, affecting the development of the neural tube, frontal cortex and spinal cord, making it difficult for the proper development of the nervous system. Therefore, considering that DNA methylation is a key epigenetic transformation in embryonic development, our objective is to clarify the role that methylation can play in the presence of morphine, for which we have resorted to state-of-the-art techniques.

Keywords: morphine, development, global hypomethylation, self-regulation mechanism.

1. Sarrera

Gaur egun, ingurumen-faktoreek gure osasunean eragin dezaketela ezaguna bada ere, bertan parte hartzen duten azpimekanismoen inguruan dagoen ezagutza oso txikia. Hori dela eta, biomedikuntzak duen erronka garrantzitsuenetako bat lotura horretan sakontzea da. Faktore horiek sor ditzaketen gaixotasunen artean nahaste autoimmuneak, neurogarapen-sindromeak, gaixotasun kardiobaskularrak eta tumore gehienak topatzen dira (Moosavi eta Ardekani, 2016). Jaio aurreko garapen-prozesua oso sentikorra da morfina bezalako substantzia kimikoekiko, toxikoekiko eta estresarekiko, eta horrek ingurumen-faktoreek enbrioi-garapenean arazoak eragin ditzaketela adierazten du (Ko, Hwang eta Choi, 2019).

Zenbait ikerketak frogatu dutenez morfinak erraz zeharkatu dezake plazenta-hesia, eta, ondorioz, enbrioira iritsi (Kazemi et al., 2011; Levitt, et al., 1998). Morfina oso analgesiko ahaltsua da, eta gaur egungo osasun-sisteman haren erabilera oso ohikoa da, nahiz eta albo-ondorio fisiologiko ugari izan. Morfinak dituen albo-ondorio horiek aski ezagunak dira

(Nakatani, 2017), eta harrek dituen efektu kaltegarrien artean garrantzitsuena garapen neuronal normalean sortzen duen atzerapena da. Ikerketa ezberdinek frogatu dutenez, garapen prozesuan eratzen diren organoek pisu nabarmenki baxuagoa izaten dute. Arratoietan, esaterako, burmuinari, giltzurrunari eta gibelari eragiten die (Eriksson eta Ronnback, 1989), eta gainera, atzerapen esanguratsuak eragiten ditu nerbio-sisteman (Niknam et al., 2013). Gainera, umetokia morfinaren eraginpean egoteak alterazioak eragiten ditu ondorengoetan, antsietate moduko portaerak, analgesiaren tolerantzia, plastikotasun sinaptikoa eta egitura neuronalean aldaketak eraginez (Gapp et al, 2014; Byrnes et al., 2011). Hala ere, morfinak enbrioiari nola eragiten dion ez da guztiz ezagutzen.

DNAren metilazioa geneen adierazpena arautzeko gaitasuna izan dezakeen marka epigenetiko garrantzitsua da. DNAren metilazioa zitosina-hondakinetan ematen da nagusiki, eta hori DNA metiltransferasen (DNMT) bidez katalizatzen da. Metiltransferasa horiek S-adenosil metionina taldea zitosina-hondakinetako 5. karbonora transferitzen dute, 5-metilzitosina (5mC) hondarra sortuz (Guo et al., 2015). Prozesu horretan sortzen den lotura, lotura kobalentea da, eta, ondorioz, marka erresistentetzat jotzen da. Eraldaketa horren mantenua DNMT1 entzimaren bidez gauzatzen da, eta *de novo* metilazioa, aldiz, DNMT3A eta DNMT3B metiltransferasen bidez (Li et al., 1992). Aipatu dugun moduan, metilazioa bizitza luzeko marka epigenetikotzat jotzen da. Hala ere, metilazio-patroiaren mantenua bermatuta ez badago (DNMT1 entzimaren absentziarengatik, esaterako) erreplikazio zikloetan zehar metilazio patroiaren galera pasiboa ematen da. Horrez gain, DNAren demetilazio prozesua entzima jakinen bidez modu aktibo batean ere gertatu daiteke, eta hortaz arduratzen diren entzimak *ten-eleven translocation* (TET) bezala ezagutzen dira; TET1, TET2 eta TET3. Proteina horiek oxigenasa gisa funtzionatzen dute metilzitosina hidroximetilzitosina-hondarrean bilakatuz, eta, ondorioz, DNAren demetilazio prozesuko lehen hondarra/bitartekaria sortuz (Ito et al., 2011).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Gure ikerketa taldeak berriki deskribatu duenez, morfinaren tratamendu kronikoak H3K27me3 histonaren eraldaketak gidatutako asaldura transkripzionalak sortzen ditu saguetako ama-zelula enbrionarioetan (mES zelulak) (Muñoa-Hoyos et al., 2020). Emaitza horrek, aldaketa epigenetikoek enbrioiaren garapen prozesuan eragin nabarmena izan dezaketela adierazten du. Hala ere, DNAren metilazioak (beste aldaketa epigenetiko garrantzitsu bat) prozesu horretan duen eraginaren inguruan ez da gauza askorik ezagutzen. Literatura zientifikoa aztertuz gero, gaiaren inguruko informazio gehiena morfinak garuneko eremu espezifikoetan sortzen dituen erregulazio-epigenetikoetan zentratu da, morfinaren erabilpena tolerantziarekin, menpekotasunarekin eta nahasmen psikiatrikoekin erlazionatuz (Browne et al 2020; Maze eta Nestler 2011). Gorputzeko beste organo eta aparatuetan zer gertatzen den, berriz, ez da ezagutzen. Horrenbestez, lan honen helburu nagusia morfinaren tratamendu kronikoak eragiten dituen aldaketa epigenetikoak aztertzea da, garapen prozesuan zehar morfinak eragiten dituen azpimekanismoekiko ezagutza handituz.

3. Ikerketaren muina

3.1. Metodologia

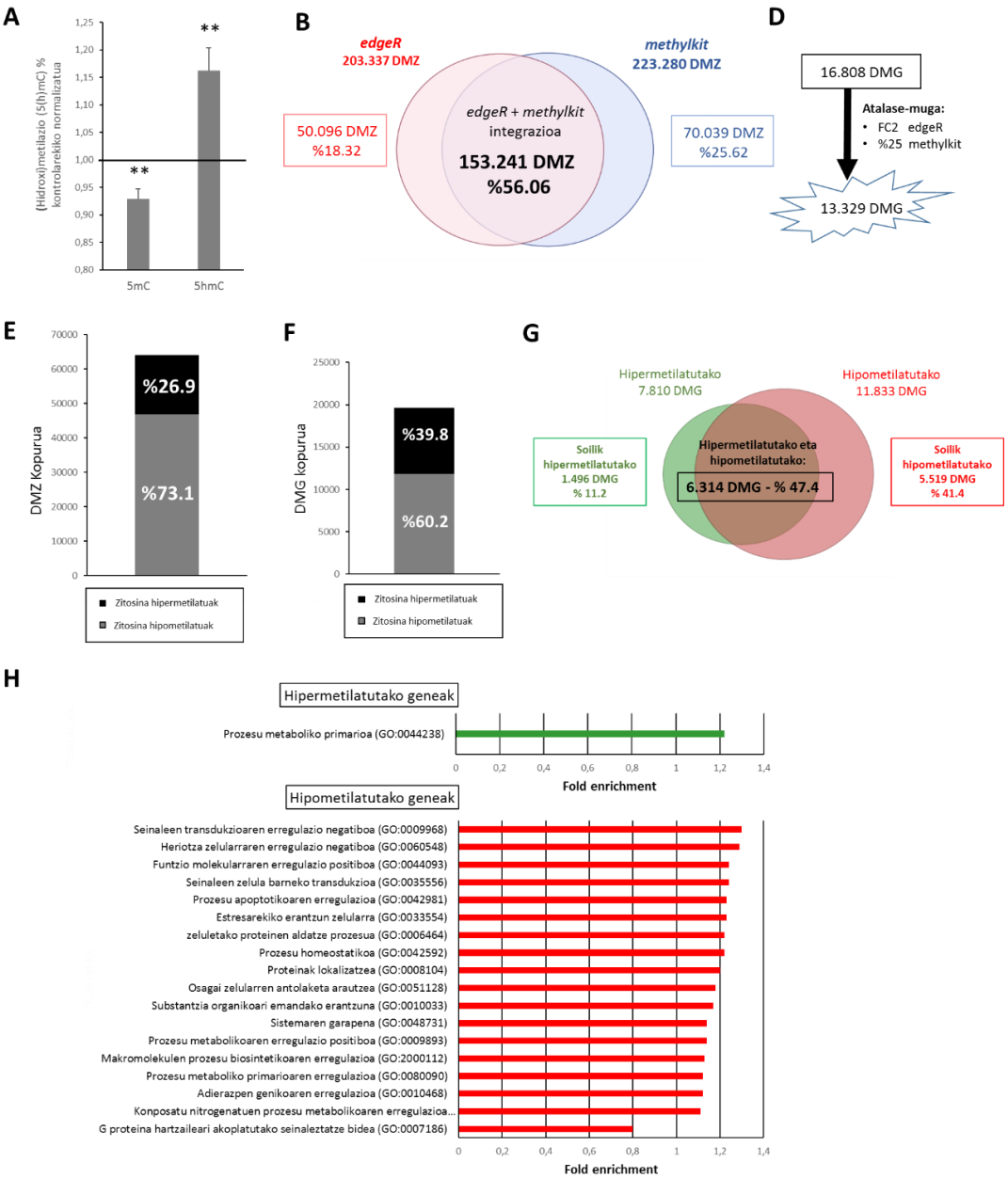
DNAren metilazioak garapen prozesuan zehar eta morfinaren presentzian jasan ditzakeen gorabeherak aztertzeko saguen blastozistoetatik eratorritako ama zelulak erabili genituen (mES zelulak); eredu egokiak baitira enbrioiaren garapen prozesu goiztiarra simulatzeko. Aukeratu genituen mES zelulak, zehazki, ES Oct-4+ zelula komertzialak izan ziren. Zelula horiei morfinaren (10 μM) 24 orduko tratamendu kronikoa gauzatu zitzaien. Genomako metilazio- (5mC) eta hidroximetilazio- (5hmC) maila globalak neurtzeko Kromatografia Likidora akoplaturiko Masa Espektometria (*LC-MS/MS*) teknika erabili zen, N=5-eko laginekin.

Lorturiko datuak ehunekotan adierazi ditugu; neurtutako 5mC eta 5hmC hondakinen kopuruak zitosinen (C) kopuru totalarekin zatitu ziren. *WGBS* (*Whole Genome Bisulfite Sequencing*) teknikaren bidez, genoma osoko zitosina guztien metilazio maila aztertu zen, banan-banan eta modu masiboan. Prozesu esperimental hori Bartzelonako CRG (Centro de Regulación Genomica) zentroarekin lankidetzan gauzatu genuen. Lortutako datu-gordinen analisi bioinformatikoa *Bismarck* programaren bidez burutu genuen, eta analisi estatistikoa, berriz, *edgeR* eta *Methylkit* programen bidez, uneoro kalitate-analisiak burutuz. Datuen integrazioa *Venny* erreminta informatikoaren bidez gauzatu genuen. Gure intereseko geneen inguruko ontologia analisia, aldiz, *Gene Ontology* tresna informatikoaren bidez gauzatu genuen. Interesezko geneen paisaia eskuratzeko *UCSC Genome Browser* zerbitzu informatikoaz baliatu ginen, bertan WGBS eta *RNAseq* tekniken bidez eskuraturiko eta trataturiko datuak elkartu genituen. Geneen adierazpen maila balioztatzeko, ostera, Polimerasaren Kate-Erreakzio kuantitatiboa Denbora Errealean (*RT-qPCR*) teknika erabili zen, N=3-ko laginekin. Horretarako, hasle espezifikoak (ingelesezko *primer*) erabili ziren, eta datuen normalizazioa burutzeko erreferentzia gene egonkorrenak aukeratu ziren (ingelesezko *housekeeping*). Lorturiko geneen adierazpenen kuantifikazio erlatiboa 2ΔΔCT metodoaren bidez aurkeztu ditugu. Azkenik, esperimentu horien bidez lortutako emaitzen analisi estatistikoa *Student*-en T proba (ingelesezko *Student's t-test*) erreminta bidez gauzatu genuen, emaitzen adierazgarritasun-maila hiru mailatan bereiziz: *p<0.05, **p<0,01 eta ***p<0,001.

3.2. Morfinarekin egindako tratamendu kronikoak hipometilazio globalaren egoera eragiten du OCT4 ES zeluletan

Lehenik eta behin, 24 orduko morfina-tratamendu kronikoak ES-OCT4 zeluletan epigenetikari dagokionez eragiten dituen aldaketak aztertu nahi izan genituen (hau da, metilazioa eta hidroximetilazioa). Masa-espektrometriak (*LC-MS/MS*) erakutsi zuenez, morfinak mES zelulek duten metilazio- eta hidroximetilazio- maila globalei eragiten die; Metilazioa maila globalak murriztu egin ziren morfinarekin tratatuak izan ziren mES zeluletan, eta hidroximetilazio maila globalak, berriz, handitu (1.A. irudia). Emaitza horiek elkarlotuak daude; hidroximetilzitosinen igoera demetilazio prozesu aktiboareakin eta metilazio-mailen jaitsiera globalarekin erlazionatua baitago. Hidroximetilzitosina, demetilazio prozesu aktiboan sortzen den lehen hondarra da, demetilazio prozesua une horretan ematen ari dela adierazten duelarik. Emaitza horiek zehaztasun handiagoz aztertzeko, metilazio-aldaketa horiek *WGBS* bidez neurtu genituen. Bi tresna estatistiko independente horien (*edgeR* eta *Methylkit*) bidez identifikatu genituen zitosina metilatu amankomunak 153.241 izan ziren (DMZ; diferentzialki metilatutako zitosinak); hau da, kontrola eta morfinarekin tratatuak izan ziren laginen artean metilazio aldaketa bera aurkeztu zuten zitosina kopurua (1.B.irudia). Zitosina kopuru hori bi tresna estatistikoek identifikatu zituzten metilazio-aldaketa guztien %56-a da (1.B. irudia), eta ehuneko hori %90-era handitzen da geneen inguruan hitz egiten badugu (DMG; diferentzialki metilatutako geneak). Hortaz, masa-espektrometriak eta *WGBS* teknikak azalarazi zituzten emaitzak bat datoz, orain arteko emaitzak berretsita geratuz; hipometilazio orokorraren hazkundea.

WGBSeq teknikaren bidez eskuraturiko datu kopuru altua aintzat hartzen badugu, haren analisia oso korapilatsua dela ikusi dezakegu. Hortaz, datu kopurua murriztu, eta gainera haien adierazgarritasun maila handitzeko helburuarekin atalase-muga zorrotzagoak ezarri genituen (1.D. irudia). Ondorioz, 153.241 DMZ izatetik 13.329 DMZ izatera iragan ginen, kasurik adierazgarrienak aukeratuz; morfinarekiko sentikortasun handienak aurkezten dituzten zitosina-hondarrak. Jarraian, morfinarengatik eraginda topatzen diren geneak aztertzera iragan ginen (1.H. irudia). Soilik hipermetilatuta topatu genituen geneen analisi ontologikoak gene horiek metabolismoarekin erlazionatuak zeudela azalarazi zuen. Metabolismoarekin erlazionatuak dauden gene horiek hipermetilatuta egotea bereziki interesgarria da; zitosina horiek demetilazio globaletik babestuta egoteaz gain, metilazio-maila are handiagoa erakusten dute. Beraz, morfinak eragindako erantzun zelular eta fisiologikoan metabolismoa klabea izan daiteke, inongo zalantzarik gabe. Soilik hipometilatuta dauden geneei dagokienez, berriz, identifikatutako ziren funtzio biologikoak oso ezberdinak izan ziren.

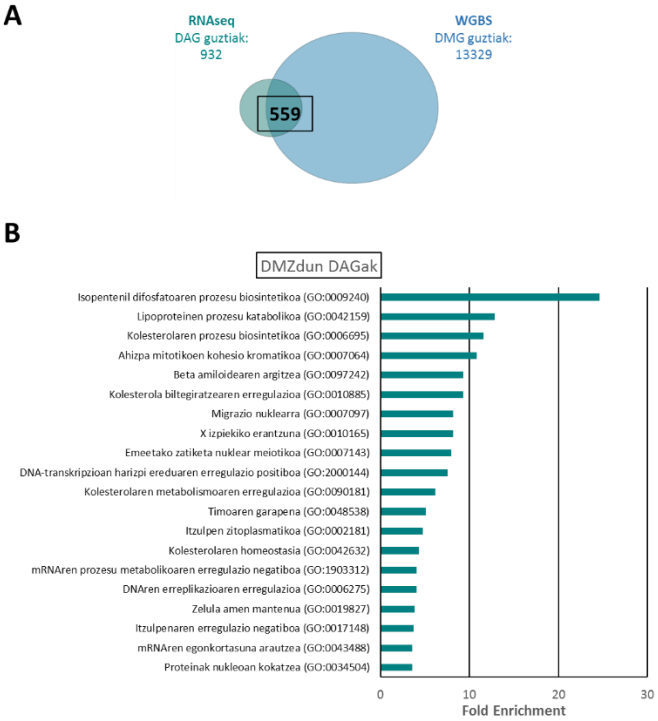


1. irudia. Morfinaren eragina mES zeluletan DNAren metilazioari dagokionez. (A) Metilazio eta hidroximetilazio maila globalak neurtzeko gauzatutako *LC-MS/MS* teknika; (B) *edgeR* eta *methylkit* erreminta estatistikoen bidez eskuratutako *WGBS* datuen integrazioa; (D) Emaitzen adierazgarritasuna handitzeko DMZ-ei ezarritako atalase mugak; (E) Identifikatutako DMZ kopurua; (F) Identifikatutako DMG kopurua; (G) Metilazioa aldaketak dituzten geneen karakterizazioa; eta (H), metilazioari dagokionez aldaketaren bat aurkeztu duten geneen ontologia analisia.

3.3. Morfinak mES zeluletan eragindako metilazio aldaketek izan dezaketen eragin errealaren identifikazioa orain arteko *WGBS* datuak *RNAseq* datuekin integratuz

Ondoren, morfinak sortutako aldaketa epigenetikoen ondorio errealak aztertzeko asmoz eskuetan genituen emaitzak *RNAseq* datuekin alboratu genituen; transkripzio-mailan emandako aldaketa guztiak neurtzen dituen teknika. DNAren metilazioak geneen adierazpena erregulatzeko ahalmena duenez, aldez aurretik identifikatu genituen metilazio aldaketek eragin transkripzionalik bait zituzten behatu nahi izan genuen. Ikerketa honetan erabilitako *RNAseq* datuak gure ikerketa-taldeak eskuratu zituen aldez aurretik, eta bertan jarraitutako prozesu

esperimentala bera izan zen (Geo: GSE151234). Datu horien integrazioak morfinarekiko sentikorrak diren 559 gene azaleratu zituen, bai metilazioari dagokionez bai transkripzioari dagokionez (2.A. irudia). Jarraian, morfinak erasandako gene horien funtzio biologikoak aztertzera iragan ginen, eta prozesu horretan mES zelulentzat funtzio kritikoa den "zelula-amen mantentze funtzioa" morfinarekiko sentikorra dela behatu genuen (2.B. irudia). Horrez gain, aipatzekoa da funtzio hori betetzen duten geneen artean *Tet1* genea topatu genuela; Gene horrek funtzio gakoa betetzen du metilazio-mailen erregulazioan, eta hori guztiz erlazionaturik dago ama zelulen mantentze prozesuarekin. Ordurarte bildutako emaitzek *Tet1* geneak morfinarekiko duen sentikortasuna hasieran antzeman genuen hipometilazio-egoera globalarekin eta ustezko demetilazio aktiboarekin zuzenean erlazionaturik egon daitekeela ondorioztatzera eraman gintuen.



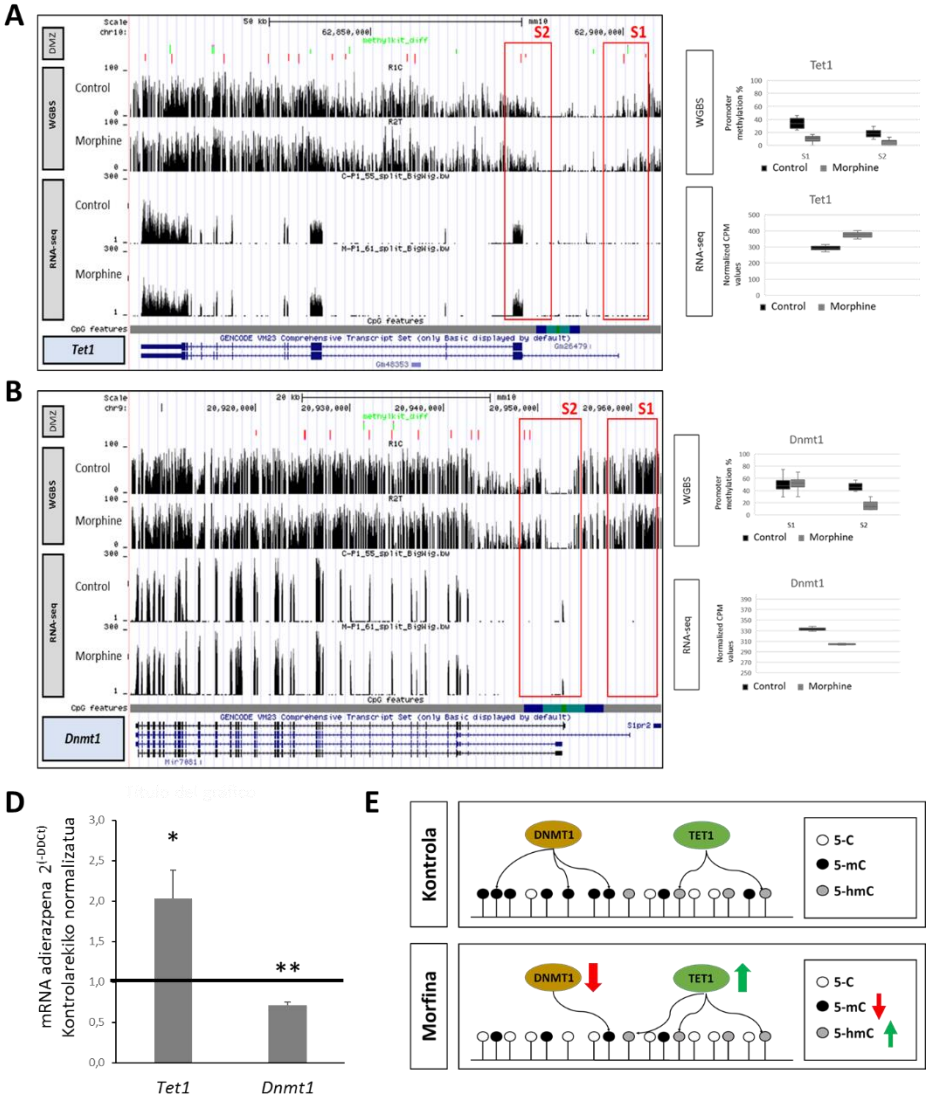
2. irudia. Morfinak metilazioaren bidez mES zeluletan sortzen duen eragin erreala. (A) *RNAseq* eta *WGBS* tekniken bidez eskuratutako datuen integrazio-analisia *Venny* erremintaren bidez; (B) Metilazioari eta adierazpen-transkripzionalari dagokionez aldaketa adierazgarri bat jasan duten 559 geneekin burututako ontologia analisia.

3.4. Morfinak handitu egiten du *Tet1* genearen adierazpena haren eskualde sustatzailean sortutako hipometilazioaren bidez, autoerregulazio-mekanismo positibo bat gauzatuz.

Amaitzeko, hurrengo pausua metilazio-mailak arautzen dituzten gene gakoak modu sakonago batean aztertzea izan zen. Analisi transkriptomikoaren arabera, *Dnmt1* mantentze-metilasaren adierazpena txikitu egin zen morfinaren ondorioz (3.B. irudia), eta *Tet1* demetilasaren adierazpena, berriz, handitu (3.A. irudia). *RNAseq* analisitik eskuratutako datu horiek *RT-qPCR* teknikaren bidez balioztatu genituen (3.D. irudia). *Dnmt1* genearen transkripzio jaitsierak eragin negatiboa izaten du metilazio-mailei dagokionez, eta, ondorioz, demetilazio-prozesu pasiboa martxan jartzen da. Aitzitik, demetilazio aktiboan parte hartzen duen geneak (*Tet1* esaterako) adierazpen handiagoa izateak nabarmen handitzen du hipometilazio globalaren igoera edota metilazio mailen jaitsiera globala. Beraz, emaitza horiek guztiz bat datoz orain arte lortutako emaitzekin.

Lanarekin amaitu baino lehen, azken pausua gene horiek euren eremu sustatzailean duten metilazio-mailak aztertzea izan zen. *Dnmt1* geneak ez zuen inongo aldaketa nabarmenik jasan

morfinaren presentzian (3.B. irudia). *Tet1* genearen kasuan, aldiz, morfinak haren adierazpena erregulatzeko ahalmena izan dezakeen demetilazio prozesua gauzatzen du haren bi eremu sustatzaileetan, gune hori hipometilatuta utzirik (3.A. irudia). Dagoeneko aipatu dugun moduan, *RNASeq* eta *qRT-PCR* analisiek, morfinaren presentzian *Dnmt1* genearen adierazpena jaitsi eta *Tet1* genearen adierazpena handitu egiten dela frogatu zuten. Hortaz, *Tet1* genearen gune sustatzailean topatu genuen metilazio aldaketa zuzenean erlazionaturik egon daiteke haren adierazpenak jasandako aldaketarekin. Tet1 entzima demetilazioa bultzatzeko gaitasuna duela kontuan hartzen badugu, TET1 entzima haren genearen eremu sustatzaileko metilazio mailak jaisten egon daiteke, haren adierazpena handituz, eta, ondorioz, demetilazio prozesua bultzatuz, atzeraelikadura positiboa aurkezten duen autoerregulazio mekanismo bat bultzatuz.



3. irudia. Morfinaren eragina metilazioaren presentzia arautzen duten bi gene gakoen gain. (A) *Tet1* genearen paisaiaren azterketa *UCSC Genome Browser* erreminta informatikoaren bidez; (B) *Dnmt1* genearen paisaiaren azterketa *UCSC Genome Browser* erreminta informatikoaren bidez; (D) *RNAseq* datuen balioztatzea *RT-qPCR* teknikaren bidez; (E) Morfinaren eragin molekularra irudikatzen duen irudi eskematikoa.

4. Ondorioak

LC-MS/MS teknikarekin behatu dugunez, morfinaren tratamenduak hidroximetilzitosinen mailak modu adierazgarrian igotzen ditu. 5hmC hondarraren presentzia oso iragankorra denez,

morfinaren ondorioz mES zeluletan egoera are hipometilatuagoa sortzen duen mekanismo nagusia demetilazio-prozesua aktiboa da. Honen inguruan burututako ikerketa gehienak soilik DNAren metilazioan zentratu direnez (DNAren hidroximetilazioa kontuan hartu gabe), gure emaitzek orain arte kontuan hartu izan ez den informazio berria plazaratzen dute, informazio osagarria izanik.

Morfinak mES zeluletan eragiten duen DNA metilatuaren mailen jaitsierak eta hidroximetilazioaren igoerak inplikazio handia izan dezake enbrioiaren garapen prozesuan, zelulen eta ehun guztien diferentziazioa edota garapena kaltetuz, eta, ondorioz, garapenean atzerapenak ekarriz. Izan ere, sistema nerbiosoko zelulen desberdintze prozesuan morfinak duen eragina aztertzerakoan, adibidez, diferentziazio prozesu hori atzeratua geratzen dela behatu da (Jimenez-Gonzalez et al., 2018), eta hori bat dator gure emaitzarekin; morfinak zelulen pluripotentzia mantentzen du hipometilazioa induzituz. Enbrioiaren garapeneko azken faseetan eratzen diren ehun nerbioso ezberdinetan, esaterako, morfinak arazoak eragiten ditu ehunaren garapen egokia oztopatuz (Niknam et al., 2013; Nasiraei-Moghadam et al., 2005).

Morfinak *Dnmt1* genearen adierazpena gutxitzea ekartzen du, entzimaren presentzia jaitsiz, eta, ondorioz, DNA metilatuaren mantentze lanak kolokan jarriz (Wang et al., 2009; Chen & Riggs, 2011; He et al., 2017). Oxikodonarekin garunean burututako zenbait esperimentuk aditzera eman dutenez, opioide horren erabilerak DNMT1 entzimaren azpierregulazioak bultzatutako egoera hipometilatu-orokorra sortzen du (Fan et al., 2021; Fan et al., 2019), eta hori gure emaitzekin bat dator. Mekanismo pasiboa garrantzitsua bada ere, demetilazio prozesuan mekanismo aktiboek duten eragina are garrantzitsuagoa da; demetilazio prozesu hori askoz bizkorrago ematen da, eta hori TET entzimen bidez gauzatzen da. Gure emaitzen arabera, TET1 demetilasa da morfinaren presentzian mES zeluletan prozesu aktibo hori gauzatzen duen hautagai nagusia; morfinak *Tet1* genearen adierazpen-igoera ekartzen du entzimaren presentzia handituz. Hori dela eta, metilazio mailak nabarmenki jaisten dira, eta genomako hidroximetilazio-maila globalak nabarmenki igotzen dira (Iyer et al., 2009; Tahiliani et al., 2009; Ito et al., 2010; Pastor et al., 2013; Wu & Zhang, 2017). Edonola ere, gure emaitza adierazgarrienetako bat morfinak *Tet1* genearen adierazpena doitzeko autoerregulazio mekanismo bat duela da. TET1 entzimak haren genearen eremu sustatzaileko metilazio maila modulatuz adierazpena autoerregulatzeko gai dela baieztatu duen ikerketak (Sun et al., 2013) gure emaitzak berresten ditu, gure hipotesia baieztatuz.

Horrenbestez, morfinaren tratamendu kronikoak genomaren estatus epigenetikoa aldatzen du, mES zelulen bereizgarria den genomaren egoera hipometilatu globala are gehiago emendatuz, eta horren atzean TET1 entzimak gauzatutako DNAren demetilazio aktiboa dago. Gainera, demetilasa horren adierazpena emendatzen duen mekanismo nagusia, entzima berak duen atzeraelikadura positiboko autoerregulazio mekanismoa da. Edozein kasutan, mekanismo nagusia demetilazio aktibo hori dela azpimarratzen badugu ere, demetilazio pasiboa ere ematen da, eta horrek metilazio-maila globalen jaitsiera are gehiago indartzen du.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizunean gure ikerketa bidearekin jarraitzeko, modu sakonago batean aztertu nahi dugu *WGBS* eta *RNAseq* sekuentziazio tekniken bidez eskuraturiko datuak; izan ere, eskuetan dugun informazio maila oso handia da, eta datuak aztertzeko dauden aukerak ugariak dira oso. Horrez gain, gure ikerketa taldeak geneen adierazpena arautzeko gaitasun handia daukan H3K27me3 eraldaketa epigenetikoak morfinaren presentzian izandako aldaketen inguruko informazioa ere badu. Horregatik, gure hurrengo helburu nagusia datu guzti horiek elkartzea da.

6. Erreferentziak

Browne CJ, Godino A, Salery M, Nestler EJ. Epigenetic Mechanisms of Opioid Addiction. Biol Psychiatry. 87(1), 22-33 (2020).

Byrnes JJ, Babb JA, Scanlan VF, Byrnes EM. Adolescent opioid exposure in female rats: transgenerational effects on morphine analgesia and anxiety-like behavior in adult offspring. Behav. Brain Res. 218(1), 200-205 (2011).

Chen Z eta Riggs AD. DNA Methylation and Demethylation in Mammals. J. Biol. Chem. 286, 18347–18353 (2011).

Eriksson PS, Ronnback L. Effects of prenatal morphine treatment of rats on mortality, bodyweight and analgesic response in the offspring. Drug Alcohol Depend., 24(3):187–94 (1989).

Fan XY, Shi G, He XJ, Li XY, Wan YX, Jian LY. Oxytocin prevents cue-induced reinstatement of oxycodone seeking: Involvement of DNA methylation in the hippocampus. Addict Biol. 26(6), e13025 (2021).

Fan XY, Shi G, Zhao P. Reversal of oxycodone conditioned place preference by oxytocin: Promoting global DNA methylation in the hippocampus. Neuropharmacology. 160, 107778 (2019).

Gapp K, Jawaid A, Sarkies P, Bohacek J, Pelczar P, Prados J, et al. Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice. Nat. Neurosci. 17(5), 667-669 (2014).

Guo X, Wang L, Li J, Ding Z, et al. Structural insight into autoinhibition and histone H3-induced activation of DNMT3A. Nature 517, 640-644 (2015).

He S, Sun H, Lin L, Zhang Y, Chen J, Liang L, Li Y, Zhang M, Yang X, Wang X, Wang F, Zhu F, Chen J, Pei D, Zheng H. Passive DNA demethylation preferentially up-regulates pluripotency-related genes and facilitates the generation of induced pluripotent stem cells. J Biol Chem. 292(45), 18542-18555 (2017).

Ito S, D'Alessio AC, Taranova OV, Hong K, Sowers LC, Zhang Y. Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. Nature. 466(7310), 1129-33 (2010).

Ito S, Shen L, Dai Q, et al. Tet Proteins Can Convert 5-Methylcytosine to 5-Formylcytosine and 5-Carboxylcytosine. Science 333, 1300–1303 (2011).

Iyer LM, Tahiliani M, Rao A, Aravind L. Prediction of novel families of enzymes involved in oxidative and other complex modifications of bases in nucleic acids. Cell Cycle Georget. Tex 8, 1698–1710 (2009).

Jimenez-Gonzalez A, García-Concejo A, León-Lobera F, Rodriguez RE. Morphine delays neural stem cells differentiation by facilitating Nestin overexpression. Biochim Biophys Acta Gen Subj. Mar;1862(3):474-484 (2018).

Kazemi M, Sahraei H, Azarnia M, Dehghani L, Bahadoran H, Tekieh E. The effect of morphine consumption on plasma corticosteron concentration and placenta development in pregnant rats. Iran J Reprod Med. 9(2):71–6 (2011).

Ko EB, Hwang KA, Choi KC. Prenatal toxicity of the environmental pollutants on neuronal and cardiac development derived from embryonic stem cells. Reprod Toxicol. 90, 15-23 (2019).

Levitt P. Prenatal effects of drugs of abuse on brain development. Drug Alcohol Depend. 51(1-2), 109-25 (1998).

Li E, Bestor TH, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. Cell. 69(6), 915-26 (1992).

Maze I, et al. Cocaine dynamically regulates heterochromatin and repetitive element unsilencing in nucleus accumbens. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 108, 3035-3040 (2011).

Moosavi A eta Ardekani A. Role of Epigenetics in Biology and Human Diseases. Iran. Biomed. J. 20, 246-258 (2016).

Muñoa-Hoyos I, Halsall JA, Araolaza M, Ward C, Garcia I, Urizar-Arenaza I, Gianzo M, Garcia P, Turner B, Subirán N. Morphine leads to global genome changes in H3K27me3 levels via a Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) self-regulatory mechanism in mESCs. Clin Epigenetics. 12(1), 170 (2020).

Nakatani T. Opioid therapy and management of side effects associated with opioids. Gan To Kagaku Ryoho 44 (4), 294–297 (2017).

Nasiraei-Moghadam S, Sahraei H, Bahadoran H, Sadooghi M, Salimi SH, Kaka GR, Imani H, Mahdavi-Nasab H, Dashtnavard H. Effects of maternal oral morphine consumption on neural tube development in Wistar rats. Brain Res Dev Brain Res. 159(1), 12-7 (2005).

Niknam NA, Azarnia M, Bahadoran H, Kazemi M, Tekieh E, Ranjbaran M, Sahraei H. Evaluating the effects of oral morphine on embryonic development of cerebellum in wistar rats. Basic Clin Neurosci. Spring. 4(2), 130-5 (2013).

Niknam NA, Azarnia M, Bahadoran H, Kazemi M, Tekieh E, Ranjbaran M, Sahraei H. Evaluating the effects of oral morphine on embryonic development of cerebellum in wistar rats. Basic Clin Neurosci., 4(2):130–5 (2013).

Pastor WA, Aravind L, Rao A. TETonic shift: biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 14, 341–356 (2013).

Sun M, Song CX, Huang H, Frankenberger CA, Sankarasharma D, Gomes S, Chen P, Chen J, Chada KK, He C, Rosner MR. HMGA2/TET1/HOXA9 signaling pathway regulates breast cancer growth and metastasis. Proc Natl Acad Sci U S A. 110(24), 9920-5 (2013).

Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5- hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. Science 324, 930-935 (2009).

Wang J, Hevi S, Kurash JK, Lei H, Gay F, Bajko J, Su H, Sun W, Chang H, Xu G, Gaudet F, Li E, Chen T. The lysine demethylase LSD1 (KDM1) is required for maintenance of global DNA methylation. Nat Genet. 41(1), 125-9 (2009).

Wu X eta Zhang Y. TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond. Nat Rev Genet. 18(9), 517-534 (2017).

7. Eskerrak eta oharrak

Manu Araolazak Euskal Herriko Unibertsitatearen (UPV/EHU) burutu zuen doktoradutza erakunde berak eskainitako beka baten bidez. Horrez gain, proiektu hau ISCIII eta Osasun Ministerioak, eta Eusko Jaurlaritzako Osasun Departamentuak emandako diru laguntzen bidez gauzatu dugu.

Herritarren ikuspegitik Bilboko auzo bateko jarduera fisikoaren hiri-ingurunea aztertzen

Ainara San Juan [1,2], Julia Fernández [1], Silvia Caballero [1,2], Iratxe Pérez [1,2], Irati Ayesta [1], Irrintzi Fernández [1,2], Sendoa Ballesteros [1,2], Leyre Gravina [1,2]

(1) Erizaintza Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Leioa, Bizkaia, (2) Biocruces Bizkaia Osasun Ikerketa Institutoa, Barakaldo, Bizkaia
ainara.sanjuan@ehu.eus

Laburpena

Ikerketa honetan Partaidetza-Ekintza Ikerketan oinarritutako Photovoice metodologia erabili zen Bilboko auzo bateko jarduera fisikoarekin (JF) lotutako hiri-inguruneko faktoreen diagnostiko komunitarioa egiteko. Deustu auzoko 11 bizilagun bost saiotan bildu ziren, eta argazkien bidez haien ingurunea eztabaidatu eta aztertu zuten. Auzoa hiru kategoria eta bederatzi azpikategoriatan deskribatu zen. Indarguneen artean, JFrako baliabideen eskuragarritasuna eta berdeguneen eta gune urdinen presentzia identifikatu ziren. Trafiko ugaria eta txirrindulari zein oinezkoentzako azpiegiturak hobetzeko beharra nabarmendu ziren ahulezien artean. Emaitzak JF sustatzeko eta tokiko hiri-ingurunea hobetzeko gomendio politiko publikoak egiteko erabili ziren.

Hitz gakoak: hiri osasuna, hiri-ingurunea, jarduera fisikoa, Partaidetza-Ekintza Ikerketa, Photovoice

Abstract

This study used Photovoice methodology, based on Participatory-Action Research, to carry out a community diagnosis of the physical activity (PA) urban environment of a neighborhood in Bilbao. 11 residents from Deusto met in five sessions to discuss and analyze their environment through their photos. Three categories and nine subcategories were used to describe the neighborhood. Accessibility of resources to PA and the presence of green and blue spaces were identified among the facilitators. Abundant traffic and the need to improve cycling and walking infrastructure came out as barriers. These results were used to develop public policy recommendations to promote PA and improve the local environment.

Keywords: urban health, urban environment, physical activity, Participatory-Action Research, Photovoice

1. Sarrera eta motibazioa

Jarduera fisikoa (JF) faktore garrantzitsua da osasun fisiko eta mentalerako, eta horren faltak gaixotasun kronikoen agerpena eta garaia baino lehenagoko heriotzak areagotzen ditu (Munduko Osasun Erakundea, 2022). Munduko Osasun Erakundearen (MOE) gomendioen arabera, herritar helduek astean JF moderatua 150 minutuz edo JF bizia 75 minutuz egin beharko lukete, eta horrez gain bizimodu aktiboak mantendu aisialdian, lanean edo eguneroko joan-etorrietan (MOE, 2022). Hala ere, ohitura osasungarriak izateak faktore sozial, ekonomiko, ingurumeneko eta politikoen eragina du, auzoko ingurune fisiko eta gizarteko faktoreak barne (Alidoost et al., 2021).

Faktore horien artean JF gehien baldintzatzen dutenak hauek dira: urbanizazioa, familia-ohiturak, diru-sarrerak, hezkuntza, garraio-sistemak, eraikitako ingurunea eta mugak murrizteko eta osasuna sustatzeko erakundeek hartutako konpromezua (Alidoost et al., 2021). Aspektu horiek hiri-morfologian biltzen dira, hau da, giza joera, jarduera eta erreakzioetan eragina duten hiriaren forma eta elementuen ezaugarri fisiko eta funtzionalak (Fathi et al., 2020). Ingurune fisiko eta sozialak hiri-ingurune batean bizi den komunitatearen ongizatean eta bizi-kalitatean duen eragina aztertzeaz hiri-osasuna arduratzen da (Wuerzer, 2014), izan ere, ezaugarri horiek eragina izan dezakete biztanleen JFan eta osasunean (Chandrabose et al., 2022; Fathi et al., 2020). Auzotarren JF ohituretan eragina duten faktoreak identifikatzeko lagungarria izan daiteke komunitate batean bizi direnak hiri-ingurunearekin nola erlazionatzen diren ulertzea. Honako ikerketan auzoaren inguruneak auzotarren JFn nola eragiten duen aztertuko da.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Urbanizazioaren ondorioz, jarduera fisikorik ezak gora egin du Europako hiri-inguruneetan (Moreno-Lamas et al., 2021), non sedentarismoaren datuak %45era iristen diren. Estatu mailan

biztanleriaren %47ak ez du JF edo kirol-jarduerarik egiten eta helduen %26,5ak bakarrik JF erregularra egiten du aisialdian. Autonomia-erkidego guztien artean, euskal biztanleriak du aisialdian JF erregularra egiten duten pertsonen ehunekorik handiena, %46,5a hain zuzen ere (Europar Batasuna, 2022; INE, 2020). Egoera hori hiri-morfologiarekin lotu da, izan ere, hiriaren egitura eta formak eragina du biztanleriaren eguneroko jardueretan, JF eta kirol-jarduera barne (Fathi et al., 2020). Ildo horretan, parke publikoak dira JF eta kirola egiteko leku nagusia Europan (%47) zein estatuan (%52), nahiz eta europar hiriburuen %2,45a baino ez diren parkeak (Europar Batasuna, 2022; Maes, 2019). Estatu mailan zifra hori %0,21era arte jaisten da, eta Bilbon, berriz, hiriko berdeguneak, kirol-instalazio eta aisialdiko instalazioen ehunekoa %4,51a da (INE, 2014).

Datu hauen arabera, ondo eraikitako inguruneek JF erraztuko lukete, baina bizimodu aktiboak sustatzeko hirian zehar erraztasunak eskaintzea ere beharrezkoa da. Hainbat esku-hartze eraginkorrak izan dira helburu horretan, hala nola, parkeak berritzea, espazio berriak sortzea, kirol-ekipamendua gehitzea, bizikleta azpiegiturak eta oinentzako bideak hobetzea, garraio publikoaren irisgarritasuna handitzea… (Zhang et al., 2022). Hiri-aldaketa horiek tokian tokiko beharretara egokituta egotea funtsezkoa da, eta baita testuinguru zein ezaugarri orografiko eta kulturalak kontuan izatea ere (Pratt et al., 2015).

Horregatik, ikerketa kualitatiboak lagungarriak dira hiri-inguruneak herritarren bizimoduan eta osasunean duen eragina ulertzeko. Partaidetza-Ekintza Ikerketan oinarritutako Photovoice teknika baliagarria da hiri-osasunari buruzko ezagutza sortzeko, herritarren parte-hartzea sustatzeko eta gizarte-aldaketa eragiteko (Lofton eta Grant, 2021; Baum et al., 2001; Wang eta Burris, 1997). Hala, herritarren zientziaren bidez, komunitate jakin baten JFn eragina duten bideratzaileak eta oztopoak aurkitu daitezke. Horrela, tokiko benetako beharrak kontuan izanik gaixotasun kronikoak saihesteko eta osasuna sustatzeko estrategia (politikoak zein sanitarioak) eraginkorrak diseinatu eta inplementatu ahal izango dira (Pratt et al., 2015; Sallis et al., 2016).

Beraz, ikerketa honen helburua Bilboko auzo bateko jarduera fisikoarekin lotutako hiri-ingurunea Photovoice metodologiaren bidez ulertzea da. Partaidetza-Ekintza Ikerketa honen bitartez komunitateko kideek ikerketa-prozesuan parte hartzeko aukera daukate. Horrela, Bilboko auzo bateko herritarren JFan eragina duten hiri-inguruneko indargune eta oztopo espezifikoak detektatu ahal izango dira, eta baita ohitura aktibo eta osasungarriak sustatzeko estrategia eraginkorrak proposatuko dira.

3. Ikerketaren muina

3.1 Diseinua

Photovoice ikerketa hau 2021 eta 2022. urteetan egin zen Bilbon (Bizkaia). Ikerketa burutzeko aukeratutako auzoa Deustu izan zen. Ikerketa egin zen unean 19.755 biztanle zituen auzoak (%46,1 gizonak eta %53,9 emakumeak), Bilbo hiriko biztanleria osoaren %5,8 izanik. Maila sozioekonomiko altuko auzoa da, ezaugarri soziodemografiko hauen arabera deskribatua: %7,8a atzerritarrak dira, %38,9ak unibertsitate edo goi mailako ikasketak dituzte, %4,6a langabezian dago eta batez besteko errenta pertsonala 25.070 €/urtekoa da (Eustat, 2022).

2021eko iraila eta azaroa bitartean ikerketa ezagutzera eman zen eta parte-hartzaileen erakarketa egin zen. Photovoice taldeko saioak urte bereko azaroa eta abendua bitartean egin ziren. Azkenik, emaitzen azterketa 2022ko otsailean eta martxoan egin zen. Ikerketa hau Helsinkiko Deklarazioaren arabera egin zen, eta Basurtuko Unibertsitate Ospitaleko Ikerketa Klinikoetarako Batzorde Etikoak onartu zuen (16.20 CEICHUB).

3.2 Parte-hartzaileak

Berariazko laginketa-estrategia bat erabili zen parte-hartzaileak erakartzeko (Patton, 2014). Parte-hartzaileen aukeraketa egiteko irizpideak honakoak izan ziren: 1) adinez nagusia izatea; 2) auzoan gutxienez 2 urtez bizi izana; 3) gaztelaniaz hitz egitea; 4) argazkiak ateratzeko arazorik ez izatea; eta 5) bost taldeko eztabaida-saioetara bertaratzeko konpromisoa hartzea. Proiektua ezagutarazteko eta parte-hartzaileak erakartzeko esku-hartze hauek egin ziren: informazio-orriak banatu eta kartelak ipini; irratian, aldizkarietan eta sare sozialetan zabaldu; auzo-elkarteekin harremanak ezarri eta jardunaldi bat antolatu. Osasun-arloko profesionalei ere informazioa eman zitzaien, eta osasun-zentroko lehen mailako arreta kontsultetan ere erakarketa egin zen.

Deustu auzoko 11 bizilagunek parte hartu zuten (6 emakume eta 5 gizon). Guztiek jaso zuten proiektuaren berri, eta baimen informatu eta irudi-eskubideen orriak bete zituzten.

3.3 Prozedura

Sexuaren arabera bereizitako bi talde antolatu ziren. Taldeak osatzeko Wangen metodologia jarraitu zen, taldeak 7-10 parte-hartzailekoak izatea iradokitzen duena (Wang eta Burris, 1999). Hala ere, taldearen tamaina baino, garrantzitsuagoa da talde-dinamika ona sortzea, eta metodologia honekin egin diren ikerketa berriek lau partaideez osatutako Photovoice taldeak ere aurrera eraman dituzte (Catalani eta Minkler, 2010; Díez et al., 2017). Talde bakoitza bi orduko bost saiotan bildu zen 2021eko azarotik abendura. Ikertzaile-taldeko pertsona batek moderatu zituen saioak, eta bitartean osasun arloko bi profesionalek sortutako eztabaidei buruzko oharrak hartzen zituzten. Gainera, saio guztiak audioan grabatu ziren (parte-hartzaileen baimenarekin).

Lehenengo saioan, ikertzaileek sarrera labur bat egin eta Photovoice metodologiari jarraituz talde-saioen lan-dinamikak azaldu zituzten. Eztabaida txiki bat sortu zen "jarduera fisikoa" terminoaren esanahia argitzeko, eta denboraren erabileren erloju bidezko teknika parte-hartzailea erabili zen eguneroko jarduera fisiko indibidualari buruzko hausnarketa errazteko (INTEF, 2021). Partaideek baimen informatua eta ezaugarri soziodemografikoak jasotzen zituen inprimakiak bete zituzten. Ondoren, hurrengo egunetan JF erraztu edo zailtzen duten beren auzoko faktore edo elementu guztiei argazkiak ateratzeko eskatu zitzaien. Parte-hartzaileek nahi adina argazki atera zitzaketen, baina gehienez bost aukeratu beharko zituzten hurrengo saioan aurkezteko (Nykiforuk et al., 2011). Azkenean, sakeleko telefonoa erabiliz argazkigintza tailer bat eskaini zitzaien.

Bigarren saioan, parte-hartzaile bakoitzak bere argazkiak aurkeztu zituen, taldean eztabaida bat sortuz. Hausnarketa gidatzeko SHOWED metodo nemoteknikoa erabili zen (Catalani eta Minkler, 2010; Wang eta Burris, 1997). Parte-hartzaileek galderak ulertzen zituztela bermatzeko, metodo hau egokitu egin zen, aldez aurreko ikerketek egin duten bezala (Díez et al., 2017; Gravina et al., 2020): zer ikusten da? (what do you See in the photo?); zer ari da gertatzen (argazkiaren istorioa)? (what is really Happening?); nola eragiten du gure jarduera fisikoan, bizitzan, edo osasunean? (how does this relate to Our physical activity, lives or health?); zergatik gertatzen da? (Why does this happen?); zer mezu edo ikasketa atera daiteke? (how can we be Empowered by this?); zer egin dezakegu honen inguruan? (what can we Do about it?).

Hirugarren saioan, parte-hartzaileek argazkiak aurkezten amaitu zuten. Aurreko saioan sortutako eztabaidarekin zerikusia zuten beste argazki batzuk ere berreskuratzeko aukera eman zitzaien. Saio hau auzoak JFarentzat dituen alderdi positiboak aztertzera zuzendu zen. Laugarren saioa auzoak JFrentzat dituen alderdi negatiboak aztertzera zuzendu zen. Gainera, parte-hartzaileek beren hiri-ingurunea irudikatzeko argazki garrantzitsuenak aukeratu zituzten. Bosgarren saioan, parte-hartzaileek hautatutako argazkiak kategoria eta azpikategoriatan bildu zituzten, haien JFrekin lotutako hiri-ingurunea deskribatzeko kontzeptu-mapa bat sortuz. Azkenik, auzoan JF sustatzeko gomendioen proposamenak idatzi zituzten.

3.4 Analisi kualitatiboa

Photovoice metodologiari jarraituz, parte-hartzaileek lehen azterketa egin zuten beren argazkietatik sortutako gaiak kodetzerakoan (Wang eta Burris, 1997). Horrela, azken saioan, eztabaidetatik sortutako ideietan oinarrituz argazkiak taldeetan sailkatu zituzten, kategoriak eta azpikategoriak kodetu zituzten eta argazki adierazgarri bat aukeratu zuten kategoria bakoitzeko. Ikertzaile-taldeak grabazioak entzun eta bileretan hartutako oharrak berrikusi zituen taldearen diskurtsoak sakon aztertzeko. Ondoren, kategoriak multzokatu zituen "gerturatze subjektibo" estrategia analitiko deduktiboa erabiliz, hau da, emaitzen (parte-hartzaileen argazkiak eta azalpenak) eta azterketa gidatzeko erabili diren teorien konparaketa eta erlazioan oinarritzen den analisi kualitatiboaren metodoa erabiliz (Neuman, 2014). Horrela, Deustu auzoko indarguneak eta ahuleziak lortu ziren, eta taldeko emaitzak gai zabalagoetan bildu ziren.

3.5 Emaitzak

Parte-hartzaileek 76 argazki atera zituzten guztira (50 emakumeen taldean eta 26 gizonen taldean), eta horietatik 40 adierazgarrienak aukeratu zituzten (emakumeek 23 eta gizonek 17). Emakumeen taldeak lau kategoria eta hamabost azpikategoria identifikatu zituen; gizonen

taldeak, berriz, lau kategoria eta hogeita bat azpikategoria. Hauetan oinarriturik, ikerketa taldeak hiru kategoria eta 9 azpikategoria atera zituen, aztertutako auzoko JFaren tokiko hiri-ingurunea irudikatzen zutenak (1. taula).

Ondoren, talde-eztabaidetan ateratako argazkietatik, kontzeptu-mapetatik eta diskurtsoetatik abiatuta, ikertzaile-taldeak Deustuko auzotarrek identifikatutako JFari lotutako hiri-ingurunearen indarguneak eta ahuleziak atera zituen (2. taula).

1. taula. Deustuko jarduera fisikoa deskribatzeko kategoriak eta azpi-kategoriak

Emakumeak	Gizonezkoak	Orokorrak
Kanpoko espazioak adin guztientzako • Paseoak • Itsasadarraren erabilerak • Parkeak eta haurrentzako tokiak • Bidegorria • Frontoia • Patinatzeko pista • Berdeguneetarako irisgarritasuna • Maskotekin	Jarduera fisiko aniztasuna • Bizikleta elektrikoa • Kirolak itsasadarrean • Mendira sarbidea • Paseoak • Parkeak Bizikleta elektrikoaren zerbitzu publikoa • Prezio zalantzagarria • Hiri-alternatiba • Erabilera desegokia • Eskaera handia	Kanpoko espazioen aniztasuna • Adin guztientzako • Erabilera anitzeko espazioak • Indartzaileak (itsasadarra, berdeguneak, maskotak, haurrak…) • Bizikleta zerbitzu publikoa • Paseoak
Erabiltzaileen arteko gatazkak • Jarduera desberdinen kontzentrazioa • Haurrentzako eremuak trafikotik gertu Trafikoz zeharkatutako auzoa • Espazio seguruen eskaria	Gatazka: oinezkoa vs gidaria • Rola baldintzatzaile gisa • Aparkalekua vs terrazak • Ikastetxeko irteera • Jardueren kontzentrazioa • Segurtasunik eza	Trafikoa eta segurtasuna • Erabiltzaileen arteko gatazka
Baliabideen kudeaketa • Auzoan berdegunerik ez egotea • Kiroldegia gainezka • Mantentze-lanik eza • Obra berriek espazioak kentzen dituzte	Oinezkoen zirkulazioa • Espaloien egoera • Ikusizko seinalerik eza • Zikinkeria • Gaizki aparkatzea • Terrazak eta oztopoak • Saltokien presentzia • Argiztapena	Espazioak eta baliabideak egokitzea • Baliabideak gainezka • Oinezkoen zirkulazioa • Berdegune gutxi auzo barruan

2. taula. Deustun jarduera fisikoa baldintzatzen duten faktoreak

Indarguneak	Ahuleziak
• Berdeguneen hurbiltasuna eta irisgarritasuna (natura) • Itsasadarraren inguruan paseatzeko gunea • Adin guztietarako kirola • Haurrentzako jolas guneak • Hirugarren adinekoentzako ariketak • Kanpoko jarduera eta kirol aniztasuna • Erabilera anitzeko espazioak • Maskotak eta seme-alabak • Bizikletak alokatzeko zerbitzu publikoa	• Trafikoaz zeharkatutako auzoa • JFrentzako guneak trafikotik gertu • Haurrentzako tokiak eta ikastolak trafikoaz inguratuta • Obrak eta espazioen okupazioa • Baliabideak gainezka egon • Jarduera desberdinen arteko espazioak eta erabiltzaileen arteko gatazkak • Oinezkoen eta txirrindularien segurtasun eza • Seinaleztapen eta erregulazio falta • Baliabideen mantentzea eta egokitzea hobetzeke

Azkenik, parte-hartzaile guztiek JF egiteko hiri-ingurunea hobetzeko hainbat gomendio idatzi zituzten, taldeetan sortutako hausnarketetan oinarrituta. Ikertzaile-taldeak lau gai globaletan bildu zituzten parte-hartzaileen proposamenak, eta 3. taulan laburbildu den gomendio politikoen txostena garatu zuen.

3. taula. JF egiteko auzoko hiri-ingurunea hobetzeko parte-hartzaileek iradokitako gomendio politikoak

Gaia	Gomendioa
Jarduera fisikorako auzoko espazioak	Auzo barruan berdeguneak eskaintzea
	Itsasadarra eguneroko jardueretan integratzea
	Adinekoentzako ariketa fisikoa sustatzea
	Haurrentzako jolas guneak hobetzea
Mugikortasuna eta irisgarritasuna	Auzora eta hirira sartzeko eta irtetzeko beste bide batzuk erraztea
	Gidarien arreta hobetzen laguntzea, oinezkoentzat mugikortasun seguruagoa sustatzeko
	Oinezko mugikortasuna egokitu
Segurtasuna	Hainbat erabiltzaileek (oinezkoak, bizikletak, patinak, eta abar) partekatutako eremuetan elkarbizitza hobetzea
	Itsasadarreko pasalekuan espazioak eta jarduerak mugatzea
Baliabideen kudeaketa	Bizikleta publikoen erabilera eta mantentze-lanetan hobekuntzak egotea
	Kaleen garbitasuna hobetzea
	Autoen emisioak eta energia-gastua murriztea
	Herritarren eskaerak jasotzea eta esku-hartze berriei buruzko kontsultak sustatzea

3.6 Eztabaida

3.6.1 Ikerketaren emaitza nagusia

Maila sozioekonomiko altua duen Bilboko auzo baten jarduera fisikoarekin lotutako hiri-ingurunea ikertu da Photovoice proiektu honetan. Horretarako, auzokideak ikerketa-prozesuaren parte izan dira argazkiak ateraz, talde-eztabaidetan parte-hartuz, diagnostiko parte-hartzailea burutuz, eta gomendio politikoak iradokiz. Komunitatearen JF sustatzen duten hainbat ezaugarri identifikatu dira, hala nola, naturarekiko hurbiltasuna (espazio berdeak eta urdinak), erabilera anitzeko azpiegituren eskuragarritasuna, zerbitzu edo baliabide publikoen eskaintza, eta adin-talde guztientzako aukerak. Bestalde, JF egiteko aurkitu diren zailtasunen artean trafikoa, bide segurtasun eza, espazioen saturazioa, mantentze lanen falta eta baliabideen egokitzapenaren beharra nabarmendu dira. Azterlan honek jarduera fisikoa baldintzatzen duten hiri-ingurunearen faktoreak herritarren ikuspegitik ulertzeko ebidentzia berria gehitzen du.

3.6.2 Gai honi buruz ezagutzen dena

Ikerketa honen emaitzak bat datoz beste autore batzuen aurkikuntzekin. Literaturaren arabera, faktore sozialek (familia-ohiturak, talde bateko kide izatea, segurtasuna), ingurumenekoek (azpiegitura fisikoak, oinezkoen eta txirrindularien garraioak), ekonomikoek (lan-egoera, dirusarrerak) eta politikoek (neurriak hartzea, baliabideen antolaketa) eragina dute JF ohitura osasungarrietan (Alidoost et al., 2021; Gargiulo et al., 2020).

Jarduera fisikoarekin erlazionatu diren faktore sozialen artean gizarte-kohesioa, arau sozialak, generoa, maila sozioekonomikoa, arraza eta pobrezia nabarmentzen dira (Alidoost et al., 2021). Gure ikerketaren emaitzetan interakzio sozialen pisua islatu da maskotekin zein haur-parkeetan, aurretiaz ere identifikatu den bezala (Gargiulo et al., 2020). Bestalde, bandalismoa JFrentzat oztopoa da, batez ere auzo txiroenetan (Suglia et al., 2016), baina aztertutako auzoa maila sozioekonomiko altukoa izateak horrelako mugarik aurkitu ez izana azal dezake.

Izan ere, jarduera fisikoei lotutako ohitura osasungarriak hartu eta mantentzeko faktore erabakigarriak dira egoera sozioekonomikoa eta hezkuntzarako aukera izatea. Aberastasun eta hezkuntza-maila altueneko biztanleek jakintza handiagoa dute osasunarentzat komenigarriak diren jokabideei buruz, eta gainera, baliabide ekonomiko gehiago dituzte erabaki osasungarriak hartu eta osasun-egoera hobetu ahal izateko (McCormack et al., 2017).

Hiri-inguruneari eta JFri buruz argitaratutako literatura asko ingurumeneko faktoreetan oinarritzen da (Fathi et al., 2020; Sallis et al., 2020), hau da, eraikitako ingurunea, eraikinen antolamendua, baliabideak eta auzoaren ezaugarriak (etxebizitza dentsitatea, konektibitatea, irisgarritasuna…). Beste emaitzen antzera, ikerketa honetan ikusi da bizilagunak kezkatuta daudela auzoa zeharkatzen duen trafikoaren diseinua eta antolaketagatik (Blitz eta Lanzendorf, 2020), alde batetik segurtasun kontuengatik, eta bestetik inguruaren erakargarritasunagatik. Gainera, auzoan egoera onean dauden eta irisgarriak diren espazioak izatea JF sustatzen du (Pedersen et al., 2022), eta azterlan honetako parte-hartzaileek ere hori identifikatu dute. Azkenik, auzoaren kokapen geografikoaren ondorioz, berdeguneak (mendia) eta gune urdinak (itsasadarra) daude, eta horrelako espazioak osasun mental zein fisikorako onuragarriak dira, gizarte-kohesioa indartzen dute eta JFri buruzko gomendioak lortzea bideratzen dute (Grazuleviciene et al., 2021).

Hala ere, auzotarren artean jarduera fisikorako ohitura osasungarriak sustatzeko ezinbestekoak dira politika publikoak ezartzea eta baliabide eskuragarriak eskaintzea. Tokiko gobernu eta agintariek zeregin garrantzitsua dute JF bermatzen duten ingurune egokiak sortuz, azpiegitura fisikoetan inbertituz eta programa komunitarioak ezarriz (Giles-Corti et al., 2016). Horretarako, herritarren parte-hartzea eta kontsulta komunitarioak tresna eraginkorrak izan daitezke auzotarren beharrak eta lehentasunak identifikatzeko, eta hala komunitatearentzat onuragarriak eta eraginkorrak diren JF sustatzeko politikak eta programak diseinatzeko (Kelly et al., 2019).

3.6.3 Ikerketa honen ekarpena

Tokiko beharretara egokitutako aldaketak diseinatzeko erabaki politikoetan komunitatearen parte-hartzea garrantzitsua izan liteke. Hori dela eta, ikerketa honetan auzotarren ikuspuntutik auzo bateko hiri-ingurunearen indarguneak eta ahuleziak identifikatu dira. Azterlan hau garrantzitsua da hiri-inguruneak JFn eragina izateaz gain, biztanleen osasunean eta ongizatean ere ondorioak dituelako. Gainera, auzotarrek analisian aktiboki parte-hartzeak eta gomendio politikoak sortzeak, komunitateak bere ingurunea hobetzeko duen inplikazioa eta konpromezua bultatzen ditu. Lan honen emaitzak baliagarriak izan daitezke tokiko agintari eta hiri-plangintzan eta -kudeaketan parte hartzen duten beste eragileek (politikariak, osasun-langileak, hezitzaileak, kirol-teknikariak, gizarte-eragileak…) JFrekin lotutako ingurunea diseinatu eta eraldatzeko, eta orokorrean ohitura osasungarriak sustatzeko eta biztanleen bizi-kalitatea hobetzeko.

3.6.4 Mugak

Lehenik eta behin, lagina eremu geografiko jakin bateko auzo bakarreko biztanleez osatuta egon da, eta emaitzak beste auzo edo hiri batzuetara ezin estrapolatzera mugatu dezake. Laginaren tamaina txikia den arren, egokia da Photovoice bezalako metodologia kualitatiborako. Gainera, jarduera fisikoari lotutako hiri-ingurunea metodo kualitatibo eta parte-hartzaileen ikuspuntuan oinarrituta ikertua izan da, eta beraz neurketa alborapena egon daiteke (pertsona aktibo edo eraginkorrenen iritzia jaso izana, adibidez), errealitatearen isla objektiboa jasotzea zaila izanez. Beste aldetik, azterlan honetan ez da hiri-ingurunea hobetzeko proposatutako gomendioen eraginkortasuna aztertu. Azkenik, ikerketa hau JFri lotutako faktore sozialak, ingurumenekoak eta politikoak jorratu ditu, baina hiri-ingurunearen pertzepzioarekin lotuta egon daitezkeen bestelako faktoreak ez dira kontuan izan, hala nola, parte-hartzaileen adina, generoa, etnia edo osasun-egoera. Beraz, gai horiei heltzeko eta hiri-inguruneko faktoreek JFn zer nolako eragina duten hobeto ulertzeko esparru honetan ikertzen jarraitu behar da.

4. Ondorioak

Photovoice metodologia komunitatearen laguntzarekin hiri-inguruneak jarduera fisikoan duen eragina aztertu ahal izateko baliagarria da. Ikertutako auzoaren JFrekin lotutako inguruneak hainbat indargune ditu, besteak beste: berdegune eta gune urdinekiko hurbiltasuna, kanpoko ekintzak egiteko aukera anitzak eta JF egiteko espazio eskaintza zabala. Hala ere, ahulguneak ere badaude, hala nola: trafiko handia, seinaleztapen eta erregulazio falta, erabiltzaile ezberdinen arteko elkarbizitzan arazoak eta baliabideak hobetzeko eta mantentzeko beharra.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Arlo honetan ikertzen jarraitzea beharrezkoa da, zahartze aktibo eta osasungarria sustatuko duten hiri-inguruneak diseinatzeko. Horretarako, etorkizuneko azterketek hiri bateko auzoen

testuinguru sozioekonomiko desberdinak kontuan hartu beharko dituzte, hiri osoko ikuspegi orokorra izateko eta beste hiri batzuekin alderatu ahal izateko. Gainera, herritarren zientzia gizartea eraldatzeko tresna gisa erabiltzen duten ikerketak ere egin beharko lirateke, batez ere hiri-ingurunea komunitatearen beharretara egokitzera zuzendutakoak. Era berean, gizarte-kohesioa, irisgarritasuna eta baliabideen eskuragarritasuna sustatzeko, komunitatearen bizi-kalitatea hobetzeko eta gaixotasun kronikoak prebenitzeko, ezinbestekoa da JFri lotutako hiri-inguruneen egokitzapena edo transformazioa erraztuko duten politikak eta estrategiak lantzea.

6. Erreferentziak

Alidoost, S., Maleki, M., & Pourasghari, H. (2021). Identifying drivers and factors affecting behavioral risk factors of noncommunicable diseases: A scoping review. *Journal of Education and Health Promotion*, 10, 398. 10.4103/jehp.jehp_1379_20

Baum, F., MacDougall, C., & Smith, D. (2001). Participatory action research. *Journal of Epidemiology and Community Health,* 60(10), 854-857. http://dx.doi.org.ehu.idm.oclc.org/10.1136/jech.2004.028662

Blitz, A., & Lanzendorf, M. (2020). Mobility design as means of promoting non-motorised travel behaviour? A literature review of concepts and findings on design functions. *Journal of Transport Geography*, 87, 102778. https://doi.org/10.1016/j.jtrangeo.2020.102778

Catalani C., & Minkler, M. (2010). Photovoice: a review of the literature in health and public health. *Health Education & Behavior*, 37(3), 424-451. https://doi.org/10.1177/1090198109342084

Chandrabose, M., den vraber, NR., Owen, N.,Sugiyama, T., & Hadgraft, N. (2022). Built environments and cardiovascular health. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*, 42(6), 416-422. 10.1097/HCR.0000000000000752

Díez, J., Conde, P., Sandin, M., Urtasun, M., Lopez, R., Carrero, JL., Gittelsohn, J., & Franco, M. (2017). Understanding the local food environment: a participatory photovoice project in a low-income area in Madrid, Spain. *Health & Place*, 43, 95-103. https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2016.11.012

Europar Batasuna. (2022): *Special Eurobarometer 525 – Sport and Physical Activity*, Kantar, Brusela. doi:10.2766/356346

Euskal Estatistika Erakundea. (2022). https://eu.eustat.eus/estadisticas/opt_0/id_All/temas.html

Fathi, S., Sajadzadeh, H., Sheshkal, FM., Aram, F., Pinter, G., Felde, I., & Mosavi, A. (2020). The role of urban morphology design on enhancing physical activity and public health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7), 2359. https://doi.org/10.3390/ijerph17072359

Gargiulo, I., Benages-Albert, M., Garcia, X., & Vall-Casas, P. (2020). Perception assessment of environmental factors related to leisure-time physical activity in an urban stream corridor. *Leisure Studies*, 39(5),688-705. https://doi.org/10.1080/02614367.2020.1743742

Giles-Corti, B., Vernez-Moudon, A., Reis, R., Turrel, G., Dannenberg, AL., Badland, G., Foster, S., Lowe, M., Sallis, JF., Stevenson, M., & Owen, N. (2016). City planning and population health: a global challenge. *The Lancet*, 388(10062), 2912-2924. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30066-6

Grazuleviciene, R., Andrusaityte, S., Dedele, A., Grazulevicius, T., Valius, L., Rapalavicius, A., Kapustinskiene,V., & Bendokiene, I. (2021). Urban environment and heatlh: a cross-sectional study of the influence of environmental quality and physical activity on blood pressure. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 6126. https://doi.org/10.3390/ijerph18116126

Gravina, L., Jauregi, A., Estebanez, A., Fernández-Aedo, I., Guenaga, N., Ballesteros-Peña, S., Díez, J., & Franco, M. (2020). Residents' perceptions of their local food environment in socioeconomically diverse neighborhoods: A photovoice study. *Appetite*, 147, 104543. https://doi.org/10.1016/j.appet.2019.104543

INE. (2020): *Encuesta Europea de Salud en España 2020.* Osasun Ministeriotik berreskuratuta.

INE. (2014). *Uso del suelo (%): Zonas verdes urbanas, instalaciones deportivas y de ocio*. INE-tik berreskuratuta.

INTEF, Instituto Nacional de Tecnologías Educativas y de Formación del Profesorado. (2021): *Cómo hacer un Fotovoz*, Ministerio de Educación y Formación Profesional, Madrid.

Kelly, CM., Wilson, JS., Baker, EA., Miller, DK., & Schootman, M. (2019). The built environment and active play. *Journal of physical activity and health*, 16(7), 541-549. doi:10.1123/jpah.2018-0262

Lofton, S., & Grant, AK. (2021). Outcomes and intentionality of action planning in Photovoice: a literature review. *Health Promotion Practice*, 22(3), 318-337. https://doi-org.ehu.idm.oclc.org/10.1177/152483992095742

Maes, J., Zulian, G., Guenther, S., Thijssen, M., & Raynal, J. (2019): *Enhancing resilience of urban ecosystems through green infrastructure (EnRoute)*, Publications Office of the European Union, Luxembourg.

McCormack, GR., Friedenreich, C., McLaren, L., Potestio, M., Sandalack, B., & Csizmadi, I. (2017). Interactions between neighbourhood urban form and socioeconomic status and their associations with anthropometric measurements in Canadian adults. *Journal of Environmental and Public Health*, 2017. https://doi.org/10.1155/2017/5042614

Moreno-Lamas, A., García-Mayor, J., & De la Cruz-Sanchez, E. (2021). Urban-rural differences in trajectories of physical activity in Europe from 2002 to 2017. *Health & Place*, 69, 102570. https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2021.102570

Munduko Osasun Erakundea. (2022). *Jarduera fisikoa.* https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity

Neuman, WL. (2014): *Social Research Methods: qualitative and quatintative approaches*, Pearson, UK.

Nykiforuk, CIJ., Vallianatos, H., & Nieuwendyk, LM. (2011). Photovoice as a method for revealing community perceptions of the built and social environment. *International Journal of Qualitative Methods*, 10(2), 103-124. https://doi-org.ehu.idm.oclc.org/10.1177/160940691101000201

Patton, MQ. (2014): *Qualitative research & evaluation methods (Fourth edition)*, SAGE Publishing.

Pedersen, MLR., Bredahl, TVG., Elmose-Osterlund, K.,& Hansen, AF. (2022). Motives and barriers related tophysicalactivity within different types of built environments: implications for health promotion. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(15), 900. https://doi.org/10.3390/ijerph19159000

Pratt, M., Perez, LG., Goenka, S., Brownson, RC., Bauman, A., Sarmiento, OL., & Hallal, PC. (2015). Can population levels of physical activity be increased? Global evidence and experience. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 57(4), 356-367. https://doi.org/10.1016/j.pcad.2014.09.002

Sallis, JF., Cerin, E., Kerr, J., Adams, MA., Sugiyama, T., Christiansen, LB., Schipperijn, J., & Davey, R. (2020). Built environment, physical activity, and obesity: findings from the International Physical Activity and Environment Network (IPEN) Adult Study. *Annual Review of Public Health*, 41, 119-139. https://doi-org.ehu.idm.oclc.org/10.1146/annurev-publhealth-040218-043657

Sallis, JF., Bull, F., Burdett, R., Frank, LD. Griffiths, P., Giles-Corti, B., & Stevenson, M. (2016). Use of science to guide city planning policy and practice: how to achieve healthy and sustainable future cities. *Lancet*, 388(10062), 2936-2947. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30068-X

Suglia, SF., Shelton, RC., Hsiao, A., Wang, YC., Rundle, A., & Link, BG. (2016). Why the neighborhood social environment is critical in obesity prevention. *Journal of Urban Health*, 93(1), 206-212. https://doi-org.ehu.idm.oclc.org/10.1007/s11524-015-0017-6

Wang, C., & Burris, MA. (1997). Photovoice: concept, methodology, and use for participatory needs assessment. *Health Education & Behavior*, 24(3):369-387. https://doi.org/10.1177/109019819702400309

Wang, C., & Burris, MA. (1999). Photovoice: a participatory action research strategy applied to women's health. *Journal of Women's Health,* 8(2), 185-92. https://doi.org/10.1089/jwh.1999.8.185

Wuerzer, T. (2014): Urban Health, in AC. Michalos, *Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research*, SpringerReference, 6825-6837.

Zhang, YF., Koene, M., Reijneveld, SA., Tuinstra, J., Broekhuis, M., van der Spek, S., & Wagenaar, C. (2022). The impact of interventions in the built environment on physical activity levels: a systematic umbrella review. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity, 19*(1), 156. https://doi.org/10.1186/s12966-022-01399-6

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau Osasun Publikoaren arloko Doktorego tesi baten parte da, Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Sailak doktore ez diren ikertzaileak prestatzeko duen doktoratu aurreko programaren onuraduna. Gainera, EHUk (US 19/14) eta Zientzia eta Teknologiarako Espainiako Fundazioak – Zientzia, Berrikuntza eta Unibertsitate Ministerioak (FCT-20-16752) diruz finantziatu dute.

Lan hau EHUko Erizaintza eta Osasun Sustapenerako Ikerketa Taldeak egin du, Biocruces Bizkaia Osasun Ikerketa Institutuko Erizaintza Kliniko eta Osasun Komunitarioa Ikerketa Taldearen parte dena. Alcalá-ko Unibertsitateko Epidemiologia Sozial eta Kardiobaskularrerako Ikerketa Taldearekin egin da. Bilboko Auzo Elkarteen Federazioaren, Bilboko Udalaren, Eusko Jaurlaritzaren Osasun Sailaren eta Bilbao Basurtoko-ESIaren laguntza izan du. JFren arloko hainbat enpresen babesa jaso du, hala nola Decathlon, Bilbao Kirolak eta Euro-Sport Bilbao.