

MAPFRE MEDICINA

ISSN: 1130-5665

MAMEE 18 (4) 225-368 (2007)

ÍNDICE CONTENTS

- 227**
EXPRESIÓN DE ONCOGENES Y ONCOSUPRESORES EN MENINGIOMAS
ONCOGENES AND TUMOR SUPPRESSOR GENES EXPRESSION IN MENINGIOMAS
Martínez-Glez V., Franco-Hernández C., Peña-Granero C., et al
- 234**
SARCOMA DE CÉLULAS CLARAS GIGANTE DE MUSLO: CUADRO CLÍNICO, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO
THIGH GIANT CLEAR CELL SARCOMA: CLINICAL ASPECT, DIAGNOSIS AND TREATMENT
Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., et al
- 240**
MICROENCAPSULACIÓN DE FACTORES NEUROTRÓFICOS: APLICACIÓN AL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON
MICROENCAPSULATION OF NEUROTROPHIC FACTORS: APPLICATION IN PARKINSON'S DISEASE
Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al
- 249**
CÉLULAS PERSISTENTEMENTE INFECTADAS POR EL VIRUS DEL SARAMPIÓN SON MÁS SENSIBLES A LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS POR TRAIL: BASE DE UNA POSIBLE TERAPIA PARA PES Y OTRAS ENCEFALITIS SARAMPIONOSAS
MEASLES VIRUS PERSISTENTLY INFECTED CELLS ARE MORE SENSITIVE TO APOPTOSIS INDUCTION BY TRAIL: BASIS FOR A POTENTIAL THERAPY IN SSPE AND OTHER MEASLES VIRUS ENCEPHALITIS
Duque B. M., Martín-Cortés A., Fernandez-Muñoz R., et al
- 259**
MASA HILIAR IZQUIERDA EN PACIENTE CON ESTENOSIS VALVULAR PULMONAR
ENLARGEMENT LEFT HILAR IN A MAN WITH PULMONARY VALVULAR STENOSIS
Bartolomé Villar A., García Méndez P., Moral Pascual J. M., et al
- 263**
COMORBILIDAD Y VISITAS A URGENCIAS EXPLICAN LOS INGRESOS HOSPITALARIOS DE LOS PACIENTES INCLUIDOS EN PROGRAMAS DE ATENCIÓN DOMICILIARIA
COMORBIDITY AND EMERGENCY VISITS EXPLAIN HOME CARE PATIENTS HOSPITAL ADMISSIONS
Gené Badia J., Hidalgo García A., Contel Segura J. C., et al
- 274**
CARACTERIZACIÓN DE TRES MUTACIONES EN EL GEN DE LA ANTITROMBINA
IDENTIFICATION OF THREE MUTATIONS IN THE ANTITHROMBIN GENE
Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al
- 284**
OPTIMIZACIÓN DEL USO DE AGENTES ESTIMULANTES DEL RECEPTOR DE LA ÉRITROPOYETINA (AREs) EN PACIENTES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS BASADO EN EL NIVEL DE HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA
OPTIMIZING THE USE OF ERYTHROPOIETIN-RECEPTOR STIMULATING AGENTS (ERAs) IN PATIENTS WITH HEMATOPOIETIC MALIGNANCIES BASED ON THE LEVEL OF RETICULOCYTE HEMOGLOBIN
Armellini A., García Marcos M. A., Martín J.S., et al →



FUNDACIÓN
MAPFRE

ÍNDICE CONTENTS

→ **292**
INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS EN GENES DE METABOLIZACIÓN DE CARCINÓGENOS Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN
METABOLIC GENE POLYMORPHISMS AND LUNG CANCER RISK

Dominguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al
305

REDES DE APOYO INFORMAL EN PERSONAS MAYORES QUE ACOGEN A ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS
INFORMAL SOCIAL SUPPORT IN ELDERLY PEOPLE WHO HOSTING UNIVERSITY STUDENTS

García González, A. J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.
316

IMPORTANCIA DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE SELECTINAS Y FACTOR TISULAR EN LA ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA EN PACIENTES JÓVENES
ROLE OF GENETIC POLYMORPHISM IN SELECTINS AND TISSUE FACTOR IN VENOUS THROMBOEMBOLISM IN YOUNG PATIENTS

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverter Calatayud J.C.
323
 EVALUACIÓN DEL ESTRÉS LABORAL DEL PERSONAL UNIVERSITARIO
LABOR STRESS EVALUATION OF THE UNIVERSITY PERSONNEL

León Rubio J.M., Avargues Navarro M.L.
333

APORTACIONES DEL ANÁLISIS MOLECULAR AL DIAGNÓSTICO Y CONOCIMIENTO DE LA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE
CONTRIBUTIONS OF THE MOLECULAR ANALYSIS TO THE DIAGNOSIS AND KNOWLEDGE OF THE DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY

Rodríguez Fernández A. L., Castillo de la Torre A.

→ **341**
COMPORTAMIENTO DE LA NEUMONÍA AGUDA EN NIÑOS EN EL HOSPITAL JULIO M. ARISTEGUI, DE CÁRDENAS
ACUTE PNEUMONIA'S BEHAVIOR IN CHILDREN AT THE CARDENAS HOSPITAL, JULIO M. ARISTEGUI

Chávez La Rosa Y., González Arencibia A.
347
 ATENCIÓN PSICOLÓGICA A PERSONAS INVOLUCRADAS EN ACCIDENTES DE TRÁFICO
PSYCHOLOGICAL CARE TO INVOLVED PEOPLE AT TRAFFIC CRASHES

Acinas Acinas, Mº P.
358

ESTUDIO ATRAUMÁTICO DE LA ACTIVIDAD SIMPÁTICA, SENSIBILIDAD DE LOS BARORECEPTORES Y DEL VOLUMEN SISTÓLICO, DECÚBITO Y ORTOSTATISMO EN SUJETOS SANOS, MANIOBRA DE VALSALVA. PARA SU APLICACIÓN EN EL ESTUDIO DEL SÍNCOPE.
 POSIBILIDADES DE INDICACIÓN TERAPÉUTICAS

NON INVASIVE ASSESSMENT OF SYMPATHETIC ACTIVITY, BAROREFLEX SENSITIVITY AND STROKE VOLUME IN ORTHOSTATIC AND SUPINE POSITIONS AS WELL AS AFTER VALSALVA'S MANEUVER TO BE USED IN THE STUDY OF SYNCOPE AND IT'S THERAPEUTIC APPLICATION

López-Vidriero Tejedor E., Arraez Aybar I.A., López-Vidriero Abelló E.

MAPFRE MEDICINA

Editor: Carlos Álvarez Jiménez
 Director: Francisco de la Gala Sánchez

Comité de Redacción

José M.ª Abad Morenilla
 Javier Alonso Santos
 José M.ª Antón García
 Alicia Bartolomé Villar
 Ricardo Cámaras Anguita
 Antonio Delgado Lacosta
 Pedro García Méndez
 José M. Gómez López
 Carlos Hernando de Larramendi
 Carmen Hernando de Larramendi

Francisco Huesa Jiménez
 Juan José Jorge Gómez
 Esperanza Llamas Cascón
 José M.ª López Puerta
 Felipe López-Oliva Muñoz
 Joaquín Martínez Ibáñez
 Manuel Miranda Mayordomo
 Ángel Ruano Hernández
 Monserrat Valls Cabrero

Consejo Asesor

Juan José Álvarez Saenz (Madrid)
 César Borobia Fernández (Madrid)
 María Castellano Arroyo (Granada)
 Luis Conde-Salazar Gómez (Madrid)
 Jacinto Corbella Corbella (Barcelona)
 José Ramón de Juanes Pardo (Madrid)
 Hipólito Durán Sacristán (Madrid)

Francisco Forriol Campos (Madrid)
 Juan Jesús Gestal Otero (Santiago de Compostela)
 Begoña Martínez Jarreta (Zaragoza)
 José Luis Miranda Mayordomo (Madrid)
 Vicente Moya Pueyo (Madrid)
 Miguel Ángel Vargas Díaz (Madrid)
 Enrique Villanueva (Granada)

Secretaría de Redacción

Carmen Amado Castela

Dirección y Redacción

FUNDACIÓN MAPFRE
 Instituto de Prevención, Salud y Medio Ambiente
 Monte del Pilar s/n. 28023 El Plantío (Madrid)
 Tel.: (34) 915 816 419 - (34) 915 816 316 - Fax: (34) 915 818 535
 e-mail: fundacion.salud@mapfre.com
 www.fundacionmapfre.com/salud

ISSN: 1130-5665



MAMEE 18 (4) 225-368 (2007)

Edita: EDITORIAL MAPFRE, S.A. - Ctra. de Pozuelo, 52 - 28220 Majadahonda (MADRID)
 Imprime: C.G.A.

Diseño y realización: Comark XXI S. L.

Publicación trimestral (4 números al año). Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, sin la autorización por escrito de los titulares del Copyright. FUNDACIÓN MAPFRE no se hace responsable del contenido de ningún artículo firmado por autores ajenos al staff editorial de la Revista. Únicamente publica artículos que reflejan las opiniones individuales de los mismos.

Depósito Legal: M. 37.367-1990 - S.V.R.: 575

Incluida en la base de datos del Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud (BECIS)



FUNDACIÓN MAPFRE a través del Instituto de Prevención, Salud y Medio Ambiente tiene entre otros objetivos contribuir a la promoción y apoyo a la investigación científica así como a la formación y perfeccionamiento técnico en aspectos relativos a la Salud.

El Instituto publica periódicamente revistas especializadas que ponemos a disposición de aquellas personas o entidades que tengan interés. Si desea recibirla/s debe completar el formulario a través de la web www.fundacionmapfre.com/salud, remitir esta solicitud por fax al 91 581 85 35 o bien por correo ordinario a la siguiente dirección:

FUNDACIÓN MAPFRE
Instituto de Prevención, Salud y Medio Ambiente
 Monte del Pilar s/n • 28023 El Plantío (Madrid)
 Teléfonos de contacto: (34) 915 816 316 • 915 816 419

Seleccione la/s revista/s que desea recibir:

MAPFRE MEDICINA PATOLOGÍA DEL APARATO LOCOMOTOR

REVISTA DEDICADA A: CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA, VALORACIÓN
DEL DAÑO CORPORAL, DAÑO CEREBRAL Y MEDULAR

Marcar con una x la opción que desea (*): Únicamente recibir la revista.
 Más información sobre actividades.

Indique: Nueva suscripción
 Cambio de datos

Dirección que nos facilita: Empresa
 Domicilio particular

Nombre:

Apellidos:

Centro de trabajo:

Cargo:

Especialidad(*):

Dirección:

Población:

Provincia:

País:

Código Postal:

Teléfono:

e-mail:

(*): Obligatorio cumplimentar.

Firma y fecha

Los datos de carácter personal incluidos en el boletín de suscripción serán incorporados a un fichero automatizado de carácter confidencial, del que es responsable y único destinatario FUNDACIÓN MAPFRE, inscrito en el Registro General de Protección de Datos, con la finalidad de gestionar de forma rápida y eficaz la comunicación con usted, así como ofrecerle información sobre las actividades fundacionales: becas, cursos, jornadas, premios y publicaciones. De acuerdo con la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/1999 de 13 de diciembre usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición dirigiéndose por escrito a FUNDACIÓN MAPFRE, Monte del Pilar, s/n. 28023 El Plantío - Madrid - España.

Editorial

Un cambio: «para saber más de temas más específicos»

FUNDACIÓN MAPFRE tras editar durante numerosos años revistas relacionadas con la medicina, ha decidido, después de un periodo de análisis, adaptar sus publicaciones, MAPFRE MEDICINA y PATOLOGÍA DEL APARATO LOCOMOTOR, a los nuevos tiempos y a las áreas de trabajo que la Fundación ha seleccionado como objetivo de su actuación al inicio del año 2007, aportando novedades y profundizando en aquello que más puede beneficiar a la sociedad.

En el momento actual las publicaciones generalistas posiblemente no son las más demandadas, tratan muchos y variados temas, razón por la que en un mundo cada vez más especializado no resultan atrayentes a todos los profesionales, por lo que se requieren revistas concebidas para personas interesadas en campos concretos, para «saber cada vez más de temas más específicos».

Hace 18 años nació la revista MAPFRE MEDICINA, surgió como un proyecto que era necesario, a la vez que ilusionante, pues recogía las aportaciones de los profesionales sobre aspectos relacionados con la Traumatología y Cirugía Ortopédica, Rehabilitación, Medicina Clínica y del Trabajo, Gestión Hospitalaria, Geriatría, Neurociencias y otras disciplinas sanitarias. A lo largo de estos años ha sido una publicación de referencia y calidad, presente en muchos centros españoles y extranjeros, que ha llegado de forma periódica a más de diez mil profesionales de la salud.

Posteriormente, como consecuencia del interés que despertaba la traumatología laboral, apareció la REVISTA PATOLOGÍA DEL APARATO LOCOMOTOR, dirigida a los traumatólogos, rehabilitadores y reumatólogos; que ha constituido un referente en la investigación del sistema músculo – esquelético, reflejo de los resultados de numerosas becas de investigación financiadas por la Fundación. La continuación de muchos de estos trabajos ha sido la publicación en revistas internacionales.

Expresión de Oncogenes y Oncosupresores en Meningiomas

Oncogenes and Tumor Suppressor Genes Expression in Meningiomas

Martínez-Glez V., Franco-Hernández C., Peña-Granero C., Rey J. A.

Unidad de Investigación, Laboratorio de Oncogenética Molecular Hospital Universitario La Paz Madrid.

Durante estos años, se ha dedicado un gran interés para mantener las dos publicaciones que, sin lugar a dudas, ha merecido la pena pues nuestro objetivo de divulgación del conocimiento y de la investigación se ha cumplido con creces.

Según decíamos, al inicio de 2007 FUNDACIÓN MAPFRE se ha replanteado sus objetivos. Por su trayectoria e historia en la integración social que ha movido a la Fundación, seguirá apoyando a «la persona que ha tenido un accidente y padece una enfermedad traumática», centrando en cuatro aspectos su actuación: el daño traumático cerebral, el daño traumático medular, la traumatología y cirugía ortopédica y la valoración del daño corporal. Son campos amplios, donde se han establecido objetivos claros y fáciles de identificar.

Para cumplir con las expectativas futuras se dispondrá de un órgano de divulgación y referencia, una única revista, con carácter multidisciplinar, con periodicidad trimestral a partir del próximo año 2008, donde se publicarán los conocimientos, las innovaciones e investigaciones de todos los especialistas interesados en estos aspectos y donde se dispondrá de la información directa de las actividades de la Fundación (ayudas, becas, cursos, premios). Desde estas líneas invitamos a nuestros lectores a solicitarla así como a participar en sus contenidos. Esperamos que esta nueva publicación sea de su agrado y cuente con su colaboración.

Todos los profesionales que hemos participado durante estos 18 años en la elaboración de las revistas aprovechamos para dar las gracias por su apoyo a quienes han colaborado con nosotros; cerramos juntos una época y abrimos otra que esperamos y deseamos será tan fructífera y larga como la anterior.

RESUMEN

Los meningiomas son tumores compuestos por células neoplásicas de la capa aracnoide y constituyen aproximadamente el 20% de todos los tumores intracraneales primarios. Hemos estudiado en una serie de meningiomas los niveles de expresión de 96 genes asociados con vías biológicas específicas relacionadas con cáncer. Para ello hemos usado membranas de microarray de expresión validadas por PCR cuantitativa. El estudio se completó con la búsqueda de la pérdida del gen NF2, principal candidato en la génesis de meningiomas, por medio de una amplificación múltiple dependiente de ligasa (MLPA). El 78% de las muestras presentó delección de un alelo del gen NF2. No se encontró ninguna relación significativa entre genes específicos y la pérdida de NF2 encontradas por MLPA. El análisis de expresión por microarray identificó 4 genes con expresión significativamente menor (BAD, BAX, FOS y TNFRSF25) y uno con expresión significativamente mayor (ITGAV) en las muestras de meningioma comparado con las correspondientes expresiones en los controles de meninge no tumoral. La expresión incrementada del gen ITGAV ha sido ya descrita en meningiomas. Por otro lado, la expresión significativamente menor de los genes BAD, BAX, FOS y TNFRSF25, es descrita en este trabajo por primera vez para este tipo tumoral. Estudios específicos para cada gen o sus interacciones aportarán mayor conocimiento sobre los procesos de transformación neoplásica y progresión tumoral en meningiomas.

Palabras clave:

Meningioma, array de expresión, MLPA.

ABSTRACT

Meningiomas are tumors arising from arachnoid layer cells and make up 20% of all intracranial tumors. We have studied in a series of meningiomas the expression levels of 96 genes associated with specific biological cancer related pathways. We have used expression microarrays validated by quantitative PCR. The study was completed with the search for losses in the NF2 gene, main candidate in the genesis of meningiomas, using multiplex ligase-dependent polymerase amplification (MLPA). 78% of the samples showed deletion for one copy of the NF2 gene. We have not found significant relation between specific genes and the loss of NF2 found by MLPA. The expression analysis by microarray identified 4 genes with significant decreased expression (BAD, BAX, FOS and TNFRSF25) and one with significant increased expression (ITGAV) in the samples of meningioma compared with the corresponding expressions in the controls from non-tumoral cerebral meninges. Increased expression of ITGAV gene has been already described in meningiomas. On the other hand, the significant decreased expression of BAD, BAX, FOS and TNFRSF25 is described in this work for the first time in meningiomas. Specific studies for each gene or its interactions will contribute to a better understanding on the processes of neoplastic transformation and progression in meningiomas.

Keywords:

Meningioma, expression array, MLPA.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 227-233

Correspondencia:

J. A. Rey
Unidad de Investigación, Laboratorio Oncogenética Molecular
Hospital Universitario La Paz
Paseo la Castellana 261, 28046 Madrid
Jarey.hulp@salud.madrid.org

Beca de Investigación de FUNDACIÓN MAPFRE

INTRODUCCIÓN

Los meningiomas son tumores compuestos por células neoplásicas de la capa aracnoide. Tienen una incidencia anual de 2-6 casos por cada 100.000 habitantes y constituyen aproximada-

mente el 20% de todos los tumores intracraneales primarios con un pico de incidencia entre la sexta y séptima década de vida. La clasificación histopatológica de meningiomas ha sido revisada por la Organización Mundial de la Salud en el año 2000 (OMS) (1). Para los meningiomas, ninguna de las alteraciones genéticas típicas ha adquirido una relevancia clínica. Sin embargo, el análisis de éstas en relación con el grado histológico ha llevado a un modelo en el cual alteraciones tempranas que están presumiblemente involucradas en la formación de meningiomas pueden ser distinguidas de alteraciones posteriores que están asociadas con progresión tumoral (2).

Citogenéticamente, la pérdida parcial o total del cromosoma 22 es la alteración más característica, apareciendo en un 70% de los casos (1). Otros cambios citogenéticos asociados a progresión incluyen principalmente las delecciones de 1p y 14q (3). Estudios moleculares han demostrado que aproximadamente la mitad de estos tumores tienen pérdidas alélicas que incluyen la banda q12 del cromosoma 22. Además, los meningiomas atípicos y anaplásicos muestran frecuentemente pérdidas alélicas en 1p, 14q, 6q, 9q, 10, 17p, 18p y 18q (1,4,5).

El gen NF2, localizado en 22q12.2, se considera como candidato en la génesis de meningiomas y tiene funciones de gen supresor de tumor (GST) (1). Mutaciones en este gen se han detectado hasta en un 60% de meningiomas estudiados (1) y también puede silenciarse por hipermetilación aberrante de las islas CpG de su región promotora (2).

Los estudios de patrones de expresión génica utilizando la tecnología de microarray de ácidos nucleicos a nivel genómico han mostrado ser un método efectivo en la identificación de cambios a nivel transcripcional global que podrían estar relacionados con la génesis y progresión tumoral (6,7,8). Por ello, hemos estudiado en una serie de meningiomas los niveles de expresión de 96 genes asociados con vías biológicas específicas relacionadas con cáncer y conocidos por su implicación oncogénica u oncosupresora en una gran variedad de tipos tumorales. Estos genes pueden ser catalogados en 6 grupos diferentes: a) control del ciclo celular y reparación de daño al ADN, b) apoptosis y senescencia celular, c) moléculas de transducción de señales y factores de transcrip-

ción, d) adhesión celular, e) angiogénesis y f) invasión y metástasis. El estudio se completó con la búsqueda de la pérdida del gen NF2 por medio de una amplificación múltiple dependiente de ligasa (MLPA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras: Se obtuvieron 9 muestras congeladas de meningioma. El diagnóstico patológico se realizó de acuerdo con la clasificación de la OMS (1), e incluía 4 meningiomas de Grado I, 3 de Grado II y 2 meningiomas recurrentes de Grado I. Se extrajo ADN usando el *Wizard Genomic DNA purification kit* (Promega) tanto para las muestras tumorales y su sangre periférica correspondiente así como ADN control de linfocitos de voluntarios sanos. La extracción de ARN se hizo con el *RNeasy Midi Kit* (QIAGEN), comprobando su integridad en geles teñidos con bromuro de etidio, y posteriormente se extrajo el ARN mensajero con el *Oligotex mRNA Mini Kit* (QIAGEN). Como controles no tumorales se utilizaron 2 muestras comerciales de ARN de meninge no tumoral de adulto.

MLPA: Para el análisis del gen NF2 se utilizó la SALSA P044 NF2 MLPA Kit de MRC-Holland (Amsterdam, NL). El kit incluye sondas para los 17 exones codificantes y 2 para la región promotora del gen NF2. Como control, incluye 12 sondas para diferentes localizaciones cromosómicas. El protocolo de MLPA se realizó usando 100ng para cada ADN control y muestra tumoral. La desnaturización e hibridación de las sondas es seguida por una reacción de ligación y PCR. Un microlitro del producto amplificado es analizado utilizando el secuenciador ABI 3100 Avant (Applied Biosystems). El análisis de los datos se hizo con el programa MRC-Coffalyser version 2. Se realizó intra-normalización para cada muestra, basada en las sondas control, y posteriormente cada muestra tumoral se normalizó por las sondas control de 5 muestras control. La disminución progresiva de señal de las sondas dentro de cada muestra en el secuenciador automático se corrigió por regresión simple. Los límites relativos normales se establecieron entre 0,75 y 1,3.

Para el análisis estadístico de los MLPA se usó el programa Coffalyser V2.

Microarray de expresión: Para el análisis de expresión génica por *microarray* se usaron membranas GEArrayTM Q Series HS-006 (SuperArray, Bethesda, MD) que contienen 96 fragmentos de cDNA por cuadruplicado, además de genes constitutivos y controles negativos. La lista completa de genes puede encontrarse en la página Web www.superarray.com. La técnica se desarrolló siguiendo los protocolos del fabricante. El cDNA se obtuvo de 200ng de mRNA por transcripción inversa y el marcaje se realizó utilizando [³³P] dCTP mediante una técnica de amplificación lineal (*AmpoLabeling-LPR.SuperArray, Bethesda, MD*). Las sondas marcadas se hibridaron en las membranas a 60°C durante 24h. Después de 4 lavados, se expusieron las membranas a una pantalla de almacenamiento (*Cyclone Storage Phosphor Screen*) y las imágenes fueron obtenidas con Cyclone 3000 y analizadas por el programa *Phoretix TM Array* (Nonlinear Dynamics Ltd.). Los datos obtenidos fueron normalizados por el gen constitutivo GAPDH y referidos a los datos obtenidos de las muestras control de meninge.

PCR Cuantitativa: Para la validación de los datos obtenidos en las membranas de microarray se realizó un ensayo cuantitativo utilizando el ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System, que permite la cuantificación relativa de ácidos nucleicos por medio del método comparativo CT a través de la fórmula 2- $\Delta\Delta$ CT, donde $\Delta\Delta$ CT es el nivel de señal normalizada de una muestra referido al nivel de señal normalizada en la muestra de calibración correspondiente. Como control endógeno se utilizó el gen GAPDH y se midieron los niveles de expresión, en 5 de las 9 membranas del estudio, de 4 sondas TaqMan® correspondientes a 4 de los 96 que componen la membrana de microarray: BCL2L1, FOS, MDM2 y TIMP1 (Applied Biosystems). Durante el proceso se adquiere la emisión resultante de la ruptura de las sondas TaqMan® en presencia de la secuencia diana. Los datos de fluorescencia son analizados con el software SDS para obtener los diferentes valores de expresión relativa.

Análisis estadístico: Los datos se han analizado mediante el programa estadístico SAS 9.1. La descripción de los datos cualitativos se realizó en forma de frecuencias absolutas y porcentajes y los datos cuantitativos mediante media, mediana y

desviación típica según la distribución de los datos. El análisis estadístico de la asociación entre la expresión génica y el resto de variables se realizó mediante análisis univariantes gen a gen. Para estudiar si la expresión de cada gen era significativamente distinta de cero se aplicó un T-test para muestra simple, las comparaciones entre grupos se analizaron mediante la U de Mann-Whitney y el coeficiente de correlación de Spearman. Para corregir la tasa de falsos descubrimientos (FDR), a nivel 0.05, se utilizó el método de Benjamini y Hochberg (9). El análisis estadístico de las variables edad, sexo, grado tumoral y MLPA se realizó mediante un modelo de regresión de efectos mixtos. Se estimaron los efectos principales y de interacción entre efectos fijos y aleatorios mediante el método de máxima verosimilitud restringido. Para comprobar la consistencia y correlación de los datos obtenidos de la expresión por microarray comparados con los datos correspondientes obtenidos por PCR cuantitativa se realizó un análisis de coeficiente de correlación intraclass.

RESULTADOS

El análisis por MLPA mostró pérdida completa de un alelo del gen NF2 en 7 de las 9 muestras de meningioma estudiadas, una de las cuales mostró también pérdida de los exones 2 al 8 en el otro alelo (Figura 1). Estos hallazgos sugieren la presencia de pérdida de heterocigocidad (LOH) para el brazo largo del cromosoma 22 para estas mismas muestras. Además, una muestra presenta delección de uno de los alelos para la sonda que hibrida en 14q13, región frecuentemente deletionada en meningiomas, y otra muestra mostró pérdida tanto para la sonda en 14q13 como para la sonda específica de la región cromosómica 6q26 (Tabla 1).

El análisis de expresión por microarray de 96 genes relacionados con cáncer identificó 4 genes con expresión significativamente menor [BAD ($p<0.001$), BAX ($p<0.001$), FOS ($p<0.001$) y TNFRSF25 ($p<0.001$)] y uno con expresión significativamente mayor [ITGAV ($p<0.001$)] en las muestras de meningioma comparado con las correspondientes expresiones en los controles de meninge no tumoral.

Los valores de expresión de todos los genes fueron normalizados atribuyendo un valor relativo

igual a 100 para el gen constitutivo GAPDH. El valor relativo de expresión para el gen BAD en la media de las muestras control (MMC) de meningioma no tumoral fue de 18.39 y los valores de expresión de las muestras tumorales para este gen mostraron una media tumoral (MT) de 2.94 (disminución en número de veces (DNV) = 6.26). El gen BAX, con una MMC de 150.53, mostró una MT de 27.32 (DNV = 5.51). El gen FOS con

MMC = 423.95 mostró una MT = 23.94 (DNV = 17.71). Para el gen TNFRSF25, MMC = 2.35 y MT = 0.62 (DNV = 3.81). El único gen con aumento significativo de expresión fue ITGAV, con una MMC = 1.07 y una MT = 14.07 (aumento en número de veces (ANV) = 13.18). En el gen TNFRSF25 la disminución en número de veces muestra un rango bastante amplio y tiene una media de las muestras control baja, así que se

consideró como ausencia de expresión para este gen en tres muestras tumorales en las que los valores de expresión estaban por debajo de 0.1 (1000 veces menor al valor para GAPDH) y que además sus puntos de expresión no fueron fácilmente distinguibles del ruido de fondo de la membrana de hibridación. Estas tres muestras no se incluyeron en el cálculo de MT y DNV para el gen TNFRSF25.

El modelo de regresión de efectos mixtos mostró tendencias significativas ($p < 0.05$) de disminución de la expresión global de los 96 genes analizados en relación con aumento en el grado tumoral de las muestras y la edad de los pacientes, si bien no se encontró una expresión diferencial de genes específicos dependientes de estas dos variables. No se encontró ninguna relación significativa entre genes específicos y la pérdida de NF2 encontradas por MLPA.

El análisis de los datos obtenidos de la expresión por microarray comparados con los datos correspondientes obtenidos por PCR cuantitativa mostraron coeficientes de correlación intraclase (BCL2L1 = 0.848, FOS = 0.795, MDM2 = 0.865 y TIMP1 = 0.817) que validan el uso de las membranas de microarray frente al método de PCR cuantitativa con sondas TaqMan®.

DISCUSIÓN

El estudio de la expresión de 96 genes relacionados con cáncer en 9 muestras de meningioma identificó 5 genes con diferencias significativas de expresión comparado con controles de meninge no tumoral. Tres de ellos, los genes BAD, BAX y TNFRSF25 pertenecen al grupo de genes relacionados con apoptosis y senescencia celular. El gen BAD (BCL2-antagonist of cell death), miembro de la familia BCL-2 de reguladores de la muerte celular programada, regula positivamente la apoptosis celular formando heterodímeros con BCL-xL y BCL-2, revirtiendo así su actividad represora de muerte celular (10,11,12). El gen BAX (BCL2-associated X protein), también miembro de la familia BCL-2, forma un heterodímero con BCL2 y funciona como activador de la apoptosis. Induce pérdida del potencial de membrana y liberación de citocromo c. Este gen está regulado por

P53 (10,11). El gen TNFRSF25 (tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25), pertenece a la superfamilia de receptores TNF. Interviene en la regulación de homeostasis linfocitaria y regula la apoptosis a través de la estimulación de NF-kappa B (13,14). La disminución en la expresión de BAD, BAX y TNFRSF25 encontrada en nuestras muestras de meningioma, podría estar produciendo una disminución de la regulación apoptótica positiva de las células tumorales analizadas y por lo tanto favorecer su crecimiento y progresión. Hasta el momento no hay trabajos que describan disminución de expresión para estos tres genes en meningiomas.

El cuarto gen con disminución significativa de su expresión en las muestras analizadas es FOS (v-fos FB murine osteosarcoma viral oncogene homolog). Los genes de la familia FOS están implicados como reguladores de la proliferación, diferenciación y transformación celular. La activación transcripcional del gen FOS está ligada a la expresión del gen supresor de tumor p53 (15). El producto de este gen forma dímeros con las proteínas de la familia JUN para formar el complejo de transcripción AP-1. Varios estudios han mostrado que la disminución de la expresión de FOS, y como consecuencia de AP-1, parece ser un evento clave en la transformación de varios tipos tumorales. Sin embargo, un estudio en meningiomas usando ensayos de hibridación dot-blot mostró incremento cualitativo de expresión para el gen FOS en el 78% de muestras de meningioma analizadas (16), de la misma forma que había sido ya descrito para gliomas benignos, gangliogliomas y ependimomas (17). Los autores de este estudio en meningiomas sugirieron la posibilidad de que el aumento de expresión se debiera a una característica «normal» de la célula progenitora de meningioma que persiste en las células tumorales, ya que el gen FOS por sí solo no produce proliferación en estos tumores. La alta expresión de FOS encontrada en las muestras de meninge no tumoral de nuestra serie, sumado a la actividad oncosupresora del gen FOS, evidenciada por su activación mediada por p53 y su capacidad de activar genes reparadores de ADN por medio de la proteína AP-1 (18), nos hace pensar que la baja expresión de FOS es un componente importante en el proceso tumoral de los meningiomas.

-TABLA 1. Resumen de datos

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
EDAD	60	49	33	61	76	71	63	69	67
SEXO	F	F	F	F	M	F	M	F	M
GRADO	I	I	I	I	II	II	II	Recidiva	Recidiva
MLPA*	- / -	+ / -	+ / exón 2-8	+ / -	- / -	+ / -	+ / -	+ / -	+ / -
**						14q13	14q13		
							6q26		
LOH***	-	+	+	+	-	+	+	+	+
GEN****									
BAD	-5	-3	-13	-2	-8	-26	-14	-6	-152
BAX	-8	-3	-15	-2	-7	-159	-22	-2	-28
FOS	-19	-49	-98	-3	-15	-163	-66	-328	-37
ITGAV	9	8	28	2	39	4	18	-5	10
TNFRSF25	-19	-5	-26	-3	-10	-32	-1	-22	-79

*Pérdida de un alelo del gen NF2 (+). **Sondas no NF2. ***Pérdida de heterocigocidad. ****Expresión relativa, en número de veces, a la media de los controles de meninge normal.

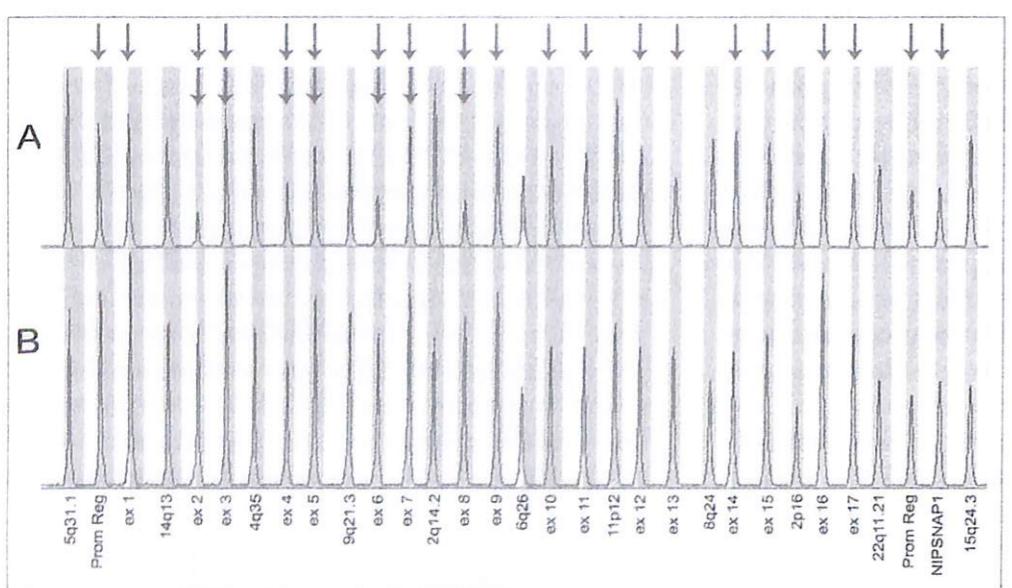


Fig. 1. Análisis por MLPA del gen NF2 mostrando la pérdida completa de un alelo y de los exones 2 al 8 en el otro alelo en una muestra de meningioma (A) comparado con una muestra no tumoral (B). Las flechas muestran las sondas con pérdida de uno o dos alelos.

Martínez-Glez V., Franco-Hernández C., Peña-Granero C., et al

Expresión génica en meningiomas

El único gen que ha mostrado aumento significativo de expresión en nuestras muestras de meningioma es el gen ITGAV. Pertenece al grupo de genes relacionados con adhesión celular y codifica para la cadena alpha V de las integrinas. Se puede asociar a múltiples cadenas beta. La más conocida es su asociación con la beta 3, a lo que se conoce como receptor Vitronectina (VNR) (19). Este receptor ha sido vinculado con anterioridad a la angiogénesis en meningiomas en un estudio que demostró su expresión en células de meningioma y células endoteliales circundantes al tumor por medio de análisis immunohistoquímicos y de Western Blot, en el que además relacionaron su expresión con la de otros factores angiogénicos como VEGF (20). A diferencia de lo descrito en ese estudio, nosotros hemos encontrado expresión de ITGAV en las muestras de meninge control, si bien esta es muy leve, lo que podría deberse a una mayor resolución en la técnica de microarray que hemos utilizado. Nuestros resultados revelan un aumento de expresión de ITGAV que podría estar mostrando un aumento de la actividad angiogénica así como una interacción de las células neoplásicas con la ma-

triz extracelular que le confieran una mayor capacidad de invasión, de forma similar a lo que ocurre en etapas normales del desarrollo embrionario como la invasión trofoblástica de la pared uterina (21). La relación entre diferentes proteínas de la matriz extracelular e invasión celular tumoral ha sido ya descrita en líneas celulares humanas de meningioma (22).

En conclusión, nuestro estudio muestra una expresión diferencial de 5 genes relacionados con cáncer en una serie de meningiomas de bajo grado comparado con muestras de meninge no tumoral. El gen ITGAV, como ya había sido descrito, aumenta su expresión en nuestra serie. Por otro lado, la expresión significativamente menor de los genes BAD, BAX, FOS y TNFRSF25, es descrita en este trabajo por primera vez para este tipo tumoral. Estudios específicos para cada gen o sus interacciones apor tarán mayor conocimiento sobre los procesos de transformación neoplásica y progresión tumoral en meningiomas.

Dedicamos este trabajo a la memoria de María Josefa Bello.

Referencias bibliográficas

1. Louis DN, Scheithauer BW, Budka H, von Deimling A, Kepes JJ. Meningiomas. In: Kleihues P and Cavenee WK, editors. World Health Classification of Tumors: Pathology and genetics of tumors of the nervous system. Lyon: IARC Press. 2000. 176-84.
2. Lomas J, Bello MJ, Arjona D, Alonso ME, Martínez-Glez V, López-Marin I, et all. Genetic and epigenetic alteration of the NF2 gene in sporadic meningiomas. *Genes Chromosomes.Cancer* 2005 Mar. 42(3):314-19.
3. Rey JA, Bello MJ, De Campos JM, Kusak E, Moreno S. Chromosomal involvement secondary to -22 in human meningiomas. *Cancer Genet.Cytogenet.* 1988 July 15. 33(2):275-90.
4. Leone PE, Bello MJ, De Campos JM, Vaquero J, Sarasá JL, Pestana A, et all. NF2 gene mutations and allelic status of 1p, 14q and 22q in sporadic meningiomas. *Oncogene* 1999 Apr. 1. 18(13): 2231-39.
5. Perry A, Gutmann DH, Reifenberger G. Molecular pathogenesis of meningiomas. *J.Neurooncol.* 2004 Nov. 70(2):183-202.
6. Baak JP, Path FR, Hermsen MA, Meijer G, Schmidt J, Janssen EA. Genomics and proteomics in cancer. *Eur.J.Cancer* 2003 June. 39(9):1199-215.
7. Watson MA, Gutmann DH, Peterson K, Chicoine MR, Kleinschmidt-DeMasters BK, Brown HG, et all. Molecular characterization of human meningiomas by gene expression profiling using high-density oligonucleotide microarrays. *Am.J.Pathol.* 2002 Aug. 161(2):665-72.
8. Wrobel G, Roerig P, Kokocinski F, Neben K, Hahn M, Reifenberger G, et all. Microarray-based gene expression profiling of benign, atypical and anaplastic meningiomas identifies novel genes associated with meningioma progression. *Int.J.Cancer* 2005 Mar. 20. 114(2):249-56.
9. Reiner A, Yekutieli D, Benjamini Y. Identifying differentially expressed genes using false discovery rate controlling procedures. *Bioinformatics*. 2003 Feb. 12. 19(3):368-75.
10. Klumpp S and Kriegstein J. Serine/threonine protein phosphatases in apoptosis. *Curr.Opin.Pharmacol.* 2002 Aug. 2(4):458-62.

Martínez-Glez V., Franco-Hernández C., Peña-Granero C., et al

Expresión génica en meningiomas

11. Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. *Cell* 1995 Jan. 27. 80(2):285-91.
12. Zha J, Harada H, Yang E, Jockel J, Korsmeyer SJ. Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-X(L). *Cell* 1996 Nov. 15. 87(4):619-28.
13. Wen L, Zhuang L, Luo X, Wei P. TL1A-induced NF-kappaB activation and c-IAP2 production prevent DR3-mediated apoptosis in TF-1 cells. *J.Biol.Chem.* 2003 Oct. 3. 278(40):39251-258.
14. Wiley SR, Cassiano L, Lofton T, Davis-Smith T, Winkles JA, Lindner V, et all. A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis. *Immunity*. 2001 Nov. 15(5):837-46.
15. Elkeles A, Juven-Gershon T, Israeli D, Wilder S, Zalcenstein A, Oren M. The c-fos proto-oncogene is a target for transactivation by the p53 tumor suppressor. *Mol.Cell Biol.* 1999 Apr. 19(4): 2594-600.
16. Detta A, Kenny BG, Smith C, Logan A, Hitchcock E. Correlation of proto-oncogene expression and proliferation and meningiomas. *Neurosurgery* 1993 Dec. 33(6):1065-74.
17. Fujimoto M, Sheridan PJ, Sharp ZD, Weaker FJ, Kagan-Hallet S, Story JL. Proto-oncogene analyses in brain tumors. *J.Neurosurg.* 1989 June. 70(6):910-15.
18. Roos WP and Kaina B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends Mol.Med.* 2006 Sept. 12(9):440-50.
19. Sims MA, Field SD, Barnes MR, Shaikh N, Ellington K, Murphy KE, et all. Cloning and characterisation of ITGAV, the genomic sequence for human cell adhesion protein (vitronectin) receptor alpha subunit, CD51. *Cytogenet.Cell Genet.* 2000. 89(3-4):268-71.
20. Bello L, Zhang J, Nikas DC, Strasser JF, Villani RM, Cheresh DA, et all. Alpha(v)beta3 and alpha(v)beta5 integrin expression in meningiomas. *Neurosurgery* 2000 Nov. 47(5):1185-95.
21. Damsky CH, Librach C, Lim KH, Fitzgerald ML, McMaster MT, Janatpour M, et all. Integrin switching regulates normal trophoblast invasion. *Development* 1994 Dec. 120(12):3657-66.
22. Rooprai HK, Liyanage K, Robinson SF, Kandanearatchi A, Dean AF, Pilkington GJ. Extracellular matrix-modulated differential invasion of human meningioma cell lines in vitro. *Neurosci.Lett.* 1999 Mar. 26. 263(2-3):214-16.

Sarcoma de células claras gigante de muslo: cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento

Thigh giant clear cell sarcoma: clinical aspect, diagnosis and treatment

Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., Saiz Pardo-Sanz M., Oliart Delgado de Tórres S., Peña Gamarra L., Prieto Sánchez A., Fernández Isabel P., Gómez Maestro P., Viso Ciudad S., Cerquella Hernández C. M^a.

Servicio de Cirugía General y Digestiva
Hospital Central de la Cruz Roja San José y
Santa Adela. Madrid

RESUMEN

El sarcoma de células claras de tendones y aponeurosis, es una tumoración infrecuente que afecta principalmente a las extremidades inferiores de adultos jóvenes. Presentamos un caso de una paciente de 72 años de edad, que debutó con una tumoración no dolorosa en la raíz del muslo izquierdo de dos años de evolución. La resonancia magnética y la citología por aspiración orientaron el diagnóstico. Tras descartar diseminación a distancia se realizó extirpación en bloque de toda la tumoración. El estudio anatopatológico de la pieza quirúrgica confirmó la presencia de un sarcoma de células claras. La paciente recibió radioterapia y quimioterapia postoperatoria y se encuentra libre de enfermedad seis meses después.

Palabras clave:

Sarcoma de células claras. Melanoma maligno de tejidos blandos. Diagnóstico. Pronóstico. Tratamiento.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 234-239

ABSTRACT

Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses is a rare aggressive soft tissue tumour that usually appears in the lower extremities of young adults and frequently produces melanin. We report the case of a previously healthy 72-year-old woman with clear cell sarcoma of the left thigh who presented with a large painless mass of 2 year's duration. MR imaging showed the tumour to be of high signal intensity on fast spin-echo and STIR images. The fine needle aspiration showed abundant melanin pigments. There was no evidence of metastatic disease. We performed resection with complete removal of the tumour. Histologic diagnosis was compatible with clear cell sarcoma. The patient received adjuvant chemotherapy and radiotherapy. She is free of disease at 6 months of follow-up.

Key words:

Clear cell sarcoma. Malignant melanoma of soft parts. Diagnosis. Prognostic. Treatment.

INTRODUCCIÓN

El sarcoma de células claras (SCC), fue descrito por primera vez por Franz M. Enzinger (1) en 1965. Se le conoce también con el nombre de melanoma maligno de tejidos blandos y aunque

produce melanina, difiere del melanoma maligno convencional en algunos aspectos: Está íntimamente asociado a tendones y aponeurosis, excepcionalmente compromete la epidermis y en el análisis citogenético muestra una traslocación en los cromosomas 12 y 22, alteración que no se encuentra en el melanoma maligno convencional (2,3).

El SCC afecta fundamentalmente a pacientes jóvenes y se caracteriza por múltiples recurrencias locales y metástasis tardías.

Correspondencia:
J. Carvajal Balaguera
Calle Téllez 30, Escalera 12, 2^a planta, puerta 3. 28007 Madrid
josuecarvajal@yahoo.es

Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., et al

Sarcoma de células claras gigante de muslo: cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento

Con ocasión de haber tenido un caso en nuestro servicio, de tamaño gigante y en una paciente mayor, hemos realizado este trabajo con el objetivo de actualizar aspectos clínicos, de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de esta rara enfermedad.

CASO CLÍNICO

Mujer de 72 años de edad con antecedentes de obesidad, insuficiencia venosa crónica de miembros inferiores, hipertensión arterial y diabetes tipo 2, remitida de la consulta de cirugía vascular por presentar una tumoración no dolorosa en muslo izquierdo de dos años de evolución sin otra alteración aparente. En el examen físico se aprecia una paciente en buen estado general aunque con moderado sobrepeso. En miembro inferior izquierdo se aprecian signos de insuficiencia venosa crónica por varices en territorio de safena interna y llama la atención la presencia de una tumoración subcutánea localizada en la raíz de la cara anterior del muslo, de 10 cm de diámetro, de consistencia firme, lobulada, de bordes mal definidos y adherida a planos profundos sin afectación superficial aparente (Figura 1). Se realiza citología por aspiración (PAAF) que muestra abundante celularidad con pigmentación melánica. La resonancia magnética muestra una tumoración que afecta el componente músculo-aponeurótico del segmento antero-interno del tercio proximal del muslo izquierdo (Figura 2).

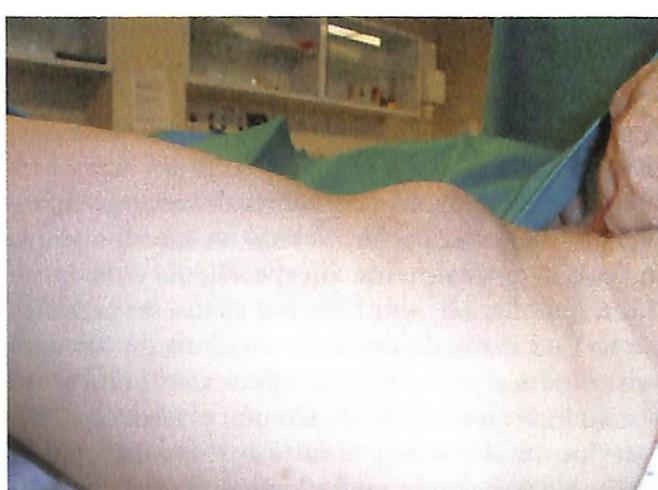


Fig. 1. Aspecto externo de la tumoración en el tercio proximal del muslo izquierdo.

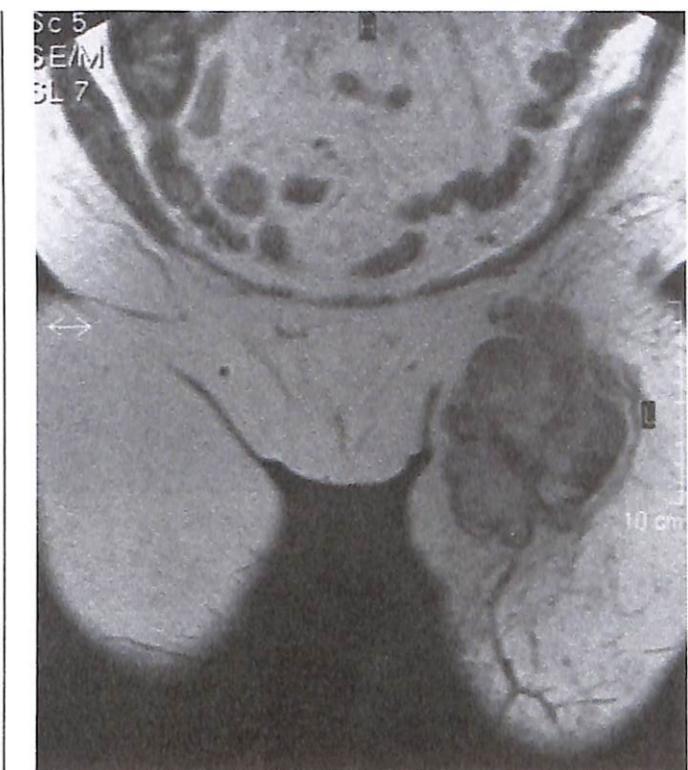


Fig. 2. Resonancia magnética: Tumoración multilobulada que compromete el plano musculo-aponeurótico localizada en la cara anteroexterna de la raíz del muslo izquierdo.

análisis de laboratorio, la radiografía del tórax y el scanner abdominal no muestran alteraciones. Bajo anestesia general se realiza extirpación en bloque de toda la tumoración que compromete la aponeurosis y tendones de la masa muscular anterior del muslo y cuyas dimensiones son de 14 x 28 cm (Figura 3). Se cierra la brecha quirúrgica dejándose drenaje aspirativo en el lecho quirúrgico. En el postoperatorio inmediato la paciente presenta cuadro de linforrea que mejora tras tratamiento médico. El estudio histológico de la pieza quirúrgica muestra una tumoración multilobulada, de crecimiento infiltrante con áreas de aspecto necrótico, hemorrágico y pigmentado. Microscópicamente, se aprecia una proliferación neoplásica constituida por células fusiformes y poligonales con citoplasma amplio y claro. El núcleo muestra marcado pleomorfismo y de aspecto vesicular. En algunos focos de la neoplasia las células se encuentran cargadas de pigmento melánico. Con técnicas de inmunohistoquímica las células tumorales son positivas para proteína S-100 y

Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., et al

Sarcoma de células claras gigante de muslo: cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento

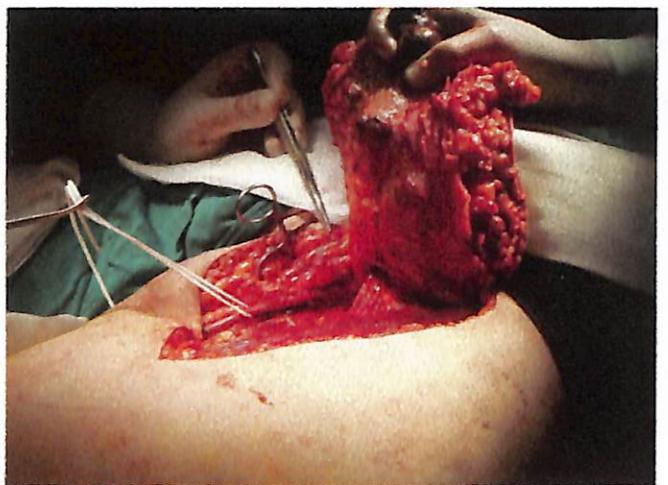


Fig. 3. Fotografía del campo operatorio.

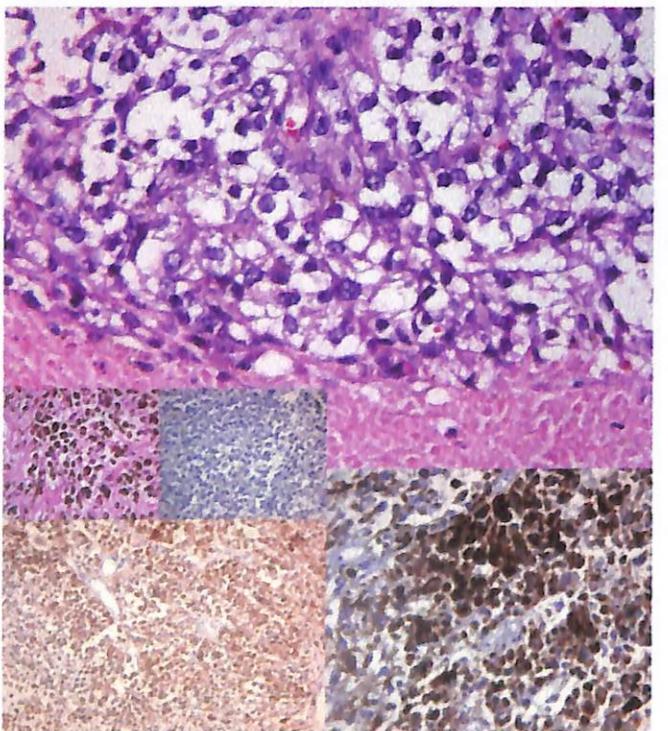


Fig. 4. Sarcoma de células claras de muslo. A (HE x 40) Nidos de células poligonales, de citoplasma amplio y claro, delimitados por septos conectivos. B Muestra ocasionales focus con presencia de melanina en el citoplasma de las células tumorales. Estas células son negativas para la técnica inmunohistoquímica de citoqueratina C y positivas con S 100 D y HMB 45 E.

frente a HMB-45, resultando negativas para citoquina, consistente con un sarcoma de células claras, grado 2 de Coindre (Figura 4). Se remite la paciente a Oncología y recibe radioterapia y

quimioterapia postoperatorias. Tras seis meses de seguimiento la paciente se encuentra libre de enfermedad y realiza una actividad diaria normal.

DISCUSIÓN

El sarcoma de células claras (SCC) es una tumoración maligna infrecuente que afecta principalmente a tendones y aponeurosis y representa cerca del 1% de los tumores malignos precedentes de tejidos blandos (4). Existen aproximadamente unos 300 casos publicados hasta la actualidad (5). Se presenta principalmente en pacientes jóvenes entre los 20 y 40 años, con una edad media de 27 años y rara vez aparece en pacientes con edades extremas, como es nuestro caso (72 Años) (6). Es ligeramente más frecuente en mujeres que en hombres. Menos del 2% de los casos han sido referidos en niños menores de 10 años.

El SCC, afecta con más frecuencia a la extremidad inferior (75,1% de los casos), fundamentalmente el pie y la rodilla, en el 28% y 21% de los casos, respectivamente. El talón y el tobillo se ven comprometidos en el 15% y el 11% de los casos, respectivamente. La afectación de la raíz del músculo como en nuestro caso, es muy infrecuente. Las extremidades superiores se ven comprometidas –en segundo lugar– en un 22% de los casos, el tronco en un 2,1% y la cabeza y cuello en el 0,8%. Los órganos internos, pared torácica, retroperitoneo, tejido óseo, genitales y sistema nervioso, son localizaciones excepcionales (6).

La historia clínica, las pruebas de imagen (radiología, ecografía, tomografía computada y resonancia magnética) y la citología por aspiración con aguja fina (PAAF), constituyen las bases del diagnóstico.

El diagnóstico clínico, habitualmente es difícil porque no se sospecha, debido a que los síntomas son generalmente inespecíficos y de larga duración. En la mitad de los casos se presenta como una masa de crecimiento lento de carácter asintomático. En otras ocasiones se manifiesta por dolor y sensación de tensión en la zona. Estos síntomas pueden manifestarse desde pocas semanas de haberse iniciado el proceso hasta incluso 20 años después. Nuestra paciente consultó, 2 años después de haberse notado por prime-

ra vez la tumoración. En la mitad de los casos se descubre casualmente tras un traumatismo (7). En otros casos constituye un hallazgo tras estudio radiológico por otra causa o también puede manifestarse por signos y síntomas secundarios a metástasis (4). A la palpación habitualmente son de consistencia firme, de aspecto nodular y con tamaño menor a 5 cm, sin embargo el tamaño gigante como el caso que presentamos, es realmente excepcional.

La resonancia magnética (RM) constituye la técnica radiológica de elección en el diagnóstico de este tipo de tumores, por tener una mayor especificidad. Generalmente, se aprecia una imagen de apariencia benigna con un ligero incremento de la densidad en T-1 con respecto a la densidad del músculo (8,9).

La escintografía con talio-201 puede ser de utilidad en la búsqueda de la enfermedad (10).

La PAAF, puede ser diagnóstica en manos expertas, debido a que es difícil diferenciar las estructuras microacinares del sarcoma del adenocarcinoma (11).

Desde el punto de vista anatomico-patológico, la superficie de la tumoración es lobulada y al corte se aprecian masas de color gris claro. En ocasiones se encuentran zonas pigmentadas, quísticas con áreas de necrosis y hemorragia, como en nuestro caso (Figura 1). Microscópicamente se describe como nidos, grupos y bandas de células fusiformes y cuboidales de citoplasma claro, núcleo vesicular, cromatina laxa y nucleolo prominente con infiltración a estructuras vecinas; también forma septos fibrosos con nidos de células tumorales.

La alteración cromosómica característica, es la translocación t (12;22) (q13;q12), ya que se ha detectado en los SCC y no se ha encontrado en otros tumores. Esta alteración se puede identificar por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) de la proteína químérica EWS/ATF1 (2,3). La melanina puede detectarse por tinción de hematoxilina y eosina. Por inmunohistoquímica es positivo a proteína S-100, la cual se observa en células de la cresta neural y HMB-45, una prueba de inmunohistoquímica para identificar melanocitos, siendo estas dos útiles para diferenciarlo del sarcoma epitelial y sinovial; la positividad a S-100 es más frecuente. El

Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., et al

Sarcoma de células claras gigante de muslo: cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento

caso que presentamos fue positivo para ambas pruebas (Figura 3). El SCC también puede ser positivo a queratina, enolasa neurona específica y sinaptofisina (12).

El diagnóstico diferencial debe hacerse con el sarcoma sinovial, fibrosarcoma, sarcoma fibro-mixoide, rhabdomiosarcoma alveolar, histiocitoma fibroso angiomatoide, tumores malignos del sistema nervioso periférico, melanoma maligno y metástasis de carcinoma renal. En algunas ocasiones el diagnóstico diferencial es fuente de verdaderos problemas, por lo que está indicado en estos casos recurrir a pruebas genéticas para detectar la alteración, que nos ayude al diagnóstico y a determinar el pronóstico (13,14). Debido a que el nevus azul tiene la misma localización, se presenta a la misma edad y tiene un parecido histológico, en ocasiones el diagnóstico diferencial con el SCC puede ser difícil.

La extirpación quirúrgica, es el tratamiento de elección del SCC. La resección quirúrgica y la radioterapia pre o postoperatoria, tienen como objetivo tanto el control local de la enfermedad como el de preservar en lo posible, la función de la extremidad afectada. Se debe extirpar toda la tumoración con un aceptable margen de seguridad pero preservando la mayor cantidad de tejido sano que facilite la reconstrucción y permita recuperar la función (15).

La supervivencia global es del 54% a 5 años, sin embargo cuando la enfermedad está localizada la supervivencia asciende al 65%, lo que implica la importancia del control local de la enfermedad (16).

En la experiencia de Jacobs y cols. (17), el tiempo libre de enfermedad a los dos y cinco años fue del 68% y del 50% respectivamente y la supervivencia a los dos y cinco años fue del 86% y del 68% respectivamente. En el trabajo de Kawai y cols.,(18) sobre 75 casos estudiados, la supervivencia a 5 años fue del 47% y a 10 años del 36%.

La edad, localización, tamaño, profundidad, estadio, la presencia de necrosis e índice de proliferación son factores pronósticos independientes (18,19).

Las localizaciones más frecuentes de la metástasis son los ganglios linfáticos regionales, pulmón y hueso. Debido a que los ganglios loco-regiona-

Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., et al

Sarcoma de células claras gigante de muslo: cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento

les están afectados en más de la mitad de los casos, se discute la necesidad de realizar una linfadenectomía regional profiláctica o en su lugar, la biopsia del ganglio centinela, como proponen múltiples autores (5,20,21), por su utilidad en el estadiaje del tumor, como se realiza habitualmente en el carcinoma de mama y en el melanoma maligno, con resultados aceptables.

En cuanto al tratamiento complementario, la radioterapia es imprescindible en todos los casos. Hasta el momento los resultados de la quimioterapia han sido controvertidos, aunque el interferón alfa-2b parece tener alguna utilidad (5). En la actualidad se propugna por un novedoso esquema de neoadyuvancia que ha mostrado efectividad en este tipo de tumores. El tratamiento neoadyuvante, reduce el tamaño de la lesión, lo que permite una mejor cirugía de resección con un mejor pronóstico (22).

Finalmente, estos tumores pueden recidivar o metastatizar hasta 10 años después del diagnóstico inicial, indica que precisan de un seguimiento a largo plazo para considerar segura la curación.

CONCLUSIÓN

El sarcoma de células claras es una neoplasia infrecuente, que afecta principalmente a adultos jóvenes y tiene predilección por el arco del pie y el tobillo. A diferencia del resto de sarcomas, las metástasis linfáticas son muy frecuentes y tempranas. La resonancia magnética es la prueba diagnóstica de elección. La biopsia del ganglio centinela es de utilidad para estadiar correctamente el tumor. La exéresis quirúrgica y la radioterapia constituyen las bases del tratamiento. La quimioterapia presenta aún resultados controvertidos.

Referencias bibliográficas

1. Enzinger FM. Clear-cell sarcoma of tendons and aponeuroses: an analysis of 21 cases. *Cancer* 1965;18:1163-174.
2. Zelger BG, Debiec-Rychter M, Sciot R, Zeger B. Cytogenetic comparison between clear sarcoma and a case of acral clear cell melanoma. *J Dtsch Dermatol Ges* 2003;1:363-68.
3. García JJ, Kramer MJ, O'Donnell RJ, Horvai AE. Mismatch repair protein expression and microsatellite instability: a comparison of clear cell sarcoma of soft parts and metastatic melanoma. *Mod Pathol* 2006;19:950-57.
4. Ehlinger M, Gicquel P, Prevost P, Clavert JM, Kehr P, Simon P. Clear cell sarcoma of tendons and aponeurosis: Three cases reports. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 2005;91:569-74.
5. Albores-Zuniga O, Padilla-Osciano A, Matínez-Said H, Cuellar-Hubbe M, Ramirez-Bollas J. Clear cell sarcoma and sentinel lymph node biopsy. Case report and literature review. *Cir Ciruj* 2006;74:121-25.
6. Enzinger FM, Wiss W. Malignant tumors of the peripheral nerves. In: Enzinger FM y Wiss W. *Soft Tissue Tumors*. St. Louis: Mosby; 2001. p.1209-263.
7. Sciot R, Speleman F. Clear cell sarcomas of soft tissue. In: Fletcher CDM, Krishnan Unni K, Mertens F. Eds. *Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone*. Lyon: IARC press; 2002, p.211-12.
8. Hourani M, Khoury N, Mourany B, Shabb NS. MR appearance of clear cell sarcoma of tendons and aponeurosis (malignant melanoma of soft parts): radiologic-pathologic correlation. *Skeletal Radiol* 2005;34:543-46.
9. Woertler K. Soft tissue masses in the foot and ankle: characteristics on MR imaging. *Semin Musculoskelet Radiol* 2005;9:227-20.
10. Ortega S, Muros MA, Llamas JL. Scintigraphy with thallium chloride in a case of clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses. *Rev Esp Med Nucl* 2003;22:336-39.
11. Tong TR, Chow T, Wai-hing O, Lee K, Yeung S, Lam A, Yu C. Clear-cell sarcoma diagnosis by fine-needle aspiration: Cytologic, histologic and ultrastructural features; potential pitfalls; literature review. *Diagnostic Cytopathology* 2002;26:174-80.
12. Swanson PE, Wick MR. Clear cell sarcoma and immunohistochemical analysis of six cases and comparison with other epithelioid neoplasms of the soft tissues. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:55-60.
13. Bui Nguyen Bin M, Bin M, Collin F, Coindre Jm. Soft tissue sarcomas: update on molecular data. *Cancer Radiother* 2006;10:15-2.
14. Coindre JM, Hostein I, Terrier P, Bouvier-Labit C, Collin F, Michels JJ, Trassard M, Marques M, Ranchere D, Guillou L. Diagnosis of clear sarcomas by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of paraffin embedded tissues:

Carvajal Balaguera J., Martín García-Almenta M., Camuñas Segovia J., et al

Sarcoma de células claras gigante de muslo: cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento

15. Ferguson PC. Surgical considerations for management of distal extremity soft tissue sarcomas. *Curr Opin Oncol* 2005;17:366-69.
16. Montgomery EA, Meis JM, Ramos AG, Frisman DM, Marzt KL. Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses a clinicopathologic study of 58 cases with analysis of prognostic factors. In *J Surg Pathol* 1993;1:89-99.
17. Jacobs IA, Chang CK, Guzman G, Salti GI. Clear cell sarcoma: an institutional review. *Am Surg* 2004;70:300-3.
18. Kawai A, Hosono A, Nakayama R, Matsumine A, Matsumoto S, Tsuchiya H, Beppu Y, Morioka H, Yabe H. Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses: a study 75 patients. *Cáncer* 2006; 109:109-16.
19. Meis-Kindblom JM. Clear sarcoma of tendons and aponeurosis: a historical perspective and tribute to the man behind the entity. *Adv Anat Oathol* 2006;13:286-92.
20. Van Akkooi AC, Verhoef C, Van Geel AN, Kliffen M, Eggermont AM, de Wilt JH. Sentinel node biopsy for clear cell sarcoma. *Eur Surg Oncol* 2006;32:996-99.
21. Al-Refaie BW, Ali WM, Chu ZD, Paz BI, Blair SL. Clear cell sarcoma in the era sentinel lymph node mapping. *J Surg Oncol* 2004;87:126-29.
22. Cecchetto G, Alaggio R, Dall'Igna P, Bisogno G, Ferrari A, Gigante C, Casanova M, Sotti G, Zanetti I, Carli M. Localized unresectable non-rhabdo soft tissue sarcomas of the extremities in pediatric age: results from the Italian studies. *Cancer* 2005;104:2006-12.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de Parkinson

Microencapsulation of neurotrophic factors: application in Parkinson's disease

Garbayo Atienza E.¹, Ansorena E.¹,
Lanciego Pérez J.L.², Aymerich Soler M.S.²,
Blanco-Prieto M.J.¹

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia.
² Laboratorio de Neuromorfología y Trazadores CIMA Universidad de Navarra.

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad degenerativa, lentamente progresiva caracterizada por temblor de reposo, cara inexpresiva, rigidez, lentitud al iniciar y practicar movimientos voluntarios. Neuropatológicamente se caracte- riza por pérdida de células dopaminérgicas en la sustancia nigra lo cual conlleva déficit en el suministro de dopamina a nivel de ganglios basales.

Los factores de crecimiento nervioso, o factores neurotróficos, que respaldan la supervivencia, crecimiento y desarrollo de las células cerebrales, son un tipo de terapia prometedora para la enfermedad de Parkinson. Se ha demostrado que el GDNF, factor neurotrófico derivado de la línea celular glial, protege las neuronas de dopamina y promueve su supervivencia en los modelos animales de la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, la administración de proteínas en el cerebro no está exenta de dificultades, por ello, el sistema elegido para administrar el GDNF en el cerebro será uno de los puntos clave para el éxito del tratamiento. En este sentido, el uso de micropartículas formuladas a partir de polímeros biodegradables parece ser la estrategia más apropiada.

En nuestro grupo de investigación hemos desarrollado un protocolo de expresión y purificación de GDNF en células eucarióticas de mamífero. El objetivo de este estudio es la microencapsulación de la proteína en partículas biodegradables.

Palabras clave:

GDNF, micropartículas, enfermedad de Parkinson, polímeros biodegradables, liberación controlada.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 240-248

ABSTRACT

Parkinson disease (PD) is a slowly progressing, degenerative disease characterized by resting tremor, expressionless face, rigidity and slowness in initiating and performing voluntary movements. Neuropathologically, PD is characterized by loss of dopaminergic cell bodies in the substantia nigra, resulting in a reduced supply of dopamine in the basal ganglia. Recently, it has been demonstrated that GDNF, a glial-derived neurotrophic factor is able to protect the dopaminergic neurons of the substantia nigra and it can also induce regeneration of injured neurons in the central nervous system *in vivo*. However, there are many difficulties in the delivery of proteins into the brain that's why a method for achieving their administration in precise areas of the brain will be a keypoint in the success of the treatment. In this sense, biodegradable microparticles could represent a very interesting strategy.

In our group, we have developed a procedure for the expression and purification of GDNF using a mammalian cell system. The aim of the present work is the GDNF microencapsulation into biodegradable particles.

Key words:

GDNF, microparticles, Parkinson's disease, biodegradable polymers, controlled release.

Correspondencia:
M. J. Blanco-Prieto. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.
Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra
Irurzun, 1. 31080 Pamplona
mjblanco@unav.es

Beca de Investigación FUNDACIÓN MAPFRE

Garbayo Atienza E., Ansorena E.,
Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos:
aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo progresivo que afecta al 1% de la población por encima de los 55 años de edad. A nivel histopatológico, se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra compacta (SNc) seguida de una marcada caída de los niveles de dopamina en el cuerpo estriado (su principal núcleo diana en el cerebro) y por la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas denominadas cuerpos de Lewy. Las principales características clínicas de la enfermedad vienen representadas por la aparición de temblor, bradicinesia, acinesia, rigidez e inestabilidad postural. La evolución a largo plazo incluye la aparición de demencia en un número muy significativo de pacientes. En la actualidad, la terapia sustitutiva con dopamina es el tratamiento de elección, situando al paciente en la llamada «luna de miel farmacológica», un periodo en el que el paciente es controlado satisfactoriamente con la medicación. A medida que la enfermedad progresiva aparecen síntomas derivados de efectos adversos de la medicación, así como síntomas no dependientes de la terapia farmacológica. Debido a que la expectativa de vida del paciente parkinsoniano es similar a la de la población general, los enfermos de EP deben afrontar durante muchos años una pléyade de síntomas muchos de ellos muy adversos y que afectan seriamente su calidad de vida.

Por todo lo anteriormente expuesto, es necesario diseñar nuevas perspectivas terapéuticas tendentes a detener o ralentizar la pérdida neuronal progresiva en SNc. Este es el objetivo de las terapias neuroprotectoras. De entrada, la pretendida neuroprotección requiere de un diagnóstico precoz que permita una intervención temprana en el curso de la enfermedad para salvaguardar de la muerte celular el mayor número posible de neuronas dopaminérgicas. Intervenciones ulteriores encaminadas a reconstruir el sistema nigroestriado dopaminérgico (con o sin efecto neuroprotector sobre las neuronas que aún sobrevivan) deben ser consideradas como estrategias neurorestauradoras o neuroregenerativas, siendo ambas un objetivo más plausible que el puramente neuroprotector en el estado actual de los conocimientos sobre la EP.

A la hora de diseñar procedimientos neuroprotectores en EP en primer lugar es necesario una reflexión para escoger adecuadamente el modelo animal en el que se va a testar dicha terapia. Afortunadamente, en EP contamos con modelos en rata que reproducen muy adecuadamente los trastornos principales de EP en el humano (para revisión sobre modelos animales de EP en neuroprotección, ver Emborg, 2004 (1). Seguidamente, es necesario escoger el agente que vamos a emplear en estos estudios. Desde hace unos años, ha sido identificado el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) como proteína muy prometedora para acometer estos estudios. Se conoce que GDNF tiene un efecto especialmente trófico en las neuronas del sistema dopaminérgico (2-4). Las restantes cuestiones son absolutamente críticas y tienen que ver por un lado con la diana elegida para dicha liberación y por otro con el método de liberación escogido. Respecto a la zona cerebral diana del tratamiento, diversos estudios han obtenido resultados muy prometedores inyectando GDNF en el estriado en ratones (5), ratas (4,6,7-12), primates (13-18) y humanos (19). Otros estudios con GDNF han tomado como diana a SNc empleando ratas y monos (3,5,15, 17,18,20-22). Finalmente, una tercera vía de administración que produce resultados favorables es la inyección directa de GDNF en el ventrículo lateral cerebral, en estudios realizados en ratas, primates y humanos (14,23-25).

Los estudios anteriores han llevado a cabo la liberación de GDNF por medio de dos diferentes estrategias, principalmente: Un amplio grupo de estudios en diferentes sujetos experimentales (ratón, rata, primate y humano) han empleado la inyección directa de la proteína GDNF «desnuda» en la diana escogida (3-9,13,14,19-26), en tanto que otros grupos han empleado en ratas y monos un vector viral que codifica para GDNF (10, 11, 15-18). Otras dos posibilidades de administración empleadas menos frecuentemente comprenden el uso de fibroblastos modificados genéticamente para expresar GDNF (2), así como GDNF encapsulado en microesferas (27-28).

De todos los estudios mencionados cabe destacar principalmente el llevado a cabo por grupo de Steven S. Gill del Instituto de Neurociencias del Hospital Frenchay, de la universidad inglesa

Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

de Bristol (19). En dicho estudio, utilizando un catéter, la proteína fue administrada cada día durante 18 meses en el putamen cerebral de cinco pacientes con EP en estado avanzado. Después de un año de tratamiento, los pacientes mostraron una mejoría del 39 por ciento en cuanto a su capacidad motriz, y de un 61 por ciento en la actitud para efectuar sus actividades cotidianas. Estos prometedores resultados no se vieron confirmados posteriormente en un estudio «doble ciego» patrocinado por AMGEN cuyos autores señalan que muy probablemente sea debido a problemas derivados de la dosificación y a la propia infusión directa. Los investigadores de este estudio señalaron la necesidad del desarrollo de mejores sistemas de suministro. En este sentido, una alternativa ideal para evitar estos inconvenientes sería el administrar el GDNF utilizando vectores poliméricos biodegradables como por ejemplo las micropartículas. En estos sistemas los compuestos biológicamente activos se encuentran atrapados en su interior. La administración del GDNF en un vector polimérico como las micropartículas permite reducir su dosis efectiva y su esquema de dosificación. Así, consiguen evitarse posibles efectos adversos y desde un punto de vista económico, rebajar considerablemente los costes de los tratamientos. Estos vectores constituyen una alternativa muy interesante para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la EP, ya que pueden administrarse fácilmente en áreas muy concretas del cerebro mediante una cirugía estereotáctica. Estos sistemas actúan como reservorio del GDNF y, además de proteger la proteína, la van liberando de forma controlada en el lugar designado durante semanas e incluso meses (29).

Debido a la baja pureza y al elevado coste del GDNF comercial nuestro grupo de investigación se planteó la necesidad de producirlo y purificarlo (30).

El siguiente paso y objetivo de este trabajo es el diseño y desarrollo de vectores poliméricos (micropartículas) conteniendo GDNF, formulados a partir de polímeros biodegradables. Estos vectores serán en primer lugar caracterizados *in vitro*, evaluándose posteriormente su eficacia en cultivos celulares. El objetivo final será la administración de los vectores, conteniendo el factor neuro-

trófico, en el estriado de ratas tratadas unilateralmente con 6-OHDA (hidroxi-dopamina) para inducirles un cuadro parkinsoniano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparación de las micropartículas

Las micropartículas se prepararon con polímeros biodegradables y biocompatibles de tipo PLA (ácido poli-láctico) y PLGA (copolímero de ácido láctico y glicólico). Estos polímeros forman parte de medicamentos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso en humanos.

Las formulaciones fueron preparadas utilizando el TROMS por el método de la evaporación del disolvente tras la formación de una emulsión múltiple de tipo A₁/O/A₂, siendo A₁ la fase acuosa interna, O la fase orgánica y A₂ la fase acuosa externa.

Se describe a continuación el procedimiento y aparato para la producción de micropartículas por TROMS. Se trata de un nuevo sistema de fabricación de micropartículas basado en la inyección turbulenta de dos fases y posterior evaporación del disolvente orgánico utilizado. Este método de fabricación tiene lugar en un aparato denominado TROMS o «Total Recirculation One-Machine System» (Sistema Monobloque de Recirculación Completa).

La Figura 1 recoge un esquema del TROMS. Dicho sistema consta de un sistema de bombeo que está conectado a una válvula multivía de la

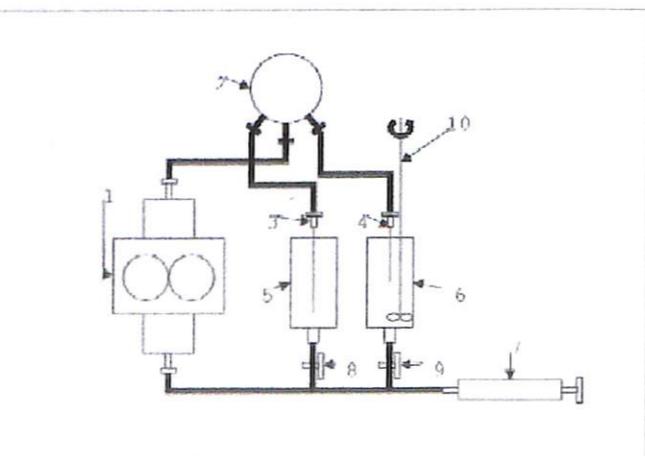


Fig. 1. Esquema del TROMS.

Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

que salen 2 agujas. La primera de ellas se encuentra dentro de la primera vasija de mezclado y la otra en la segunda vasija de mezclado. Mediante una jeringa de vidrio con émbolo de teflón se incorpora al sistema la fase orgánica. Las vasijas de mezclado están conectadas a la bomba a través de dos válvulas. El mecanismo de agitación puede incorporarse al sistema o bien ser ajeno al mismo.

Se preparan las fases según la formulación deseada. Se ajusta el flujo de la bomba (ml/min) y se procede a la selección de las agujas. En la primera vasija de mezclado se introduce la fase acuosa A₁, que contiene el fármaco o el material a encapsular. Se acciona el sistema de bombeo manteniendo cerradas las válvulas que conectan las vasijas de mezcla con la bomba, de tal forma que a través de la jeringa se introduce la fase O, que contiene el polímero formador de las micropartículas. La válvula multivía que permite la inyección turbulenta a través de la aguja 3. La fase O es, por tanto inyectada de forma turbulenta sobre la fase A₁. Inicialmente se forma, dentro de la vasija 5, una emulsión O/A que rápidamente se invierte en una emulsión A/O dado que el volumen de la fase O es sustancialmente mayor que el de la fase A₁. En este momento se abre la válvula 8 y se permite que la emulsión formada recircule a través del sistema durante un periodo de tiempo suficiente para que la emulsión sea homogénea (este periodo depende del volumen de emulsión formado). Una vez la emulsión A₁/O es homogénea, se cambia la posición de la aguja multivía 2 para que la mezcla pase a través de la aguja 4. Se inyecta así la emulsión A₁/O en la vasija 6 que contiene la fase acuosa A₂. La inyección turbulenta hace que se forme la emulsión A₁/O/A₂ dentro de la vasija. Se cierra la válvula 8 y se abre la 9 para permitir la recirculación total de la mezcla, durante un periodo de tiempo suficiente para que la emulsión tenga un tamaño de gota homogéneo. Tras ese tiempo, la emulsión múltiple se deja agitando a temperatura ambiente hasta la completa evaporación del disolvente de la fase O, mediante un agitador de hélice 10. Esta operación puede realizarse en el mismo aparato, incorporando en la vasija 6 el agitador de hélice, o bien mediante un sistema de agitación ajeno al aparato. La evaporación del disolvente orgánico lleva consigo la formación de las micropartículas,

que contienen en su interior la fase A₁, donde se encuentra el GDNF.

Para la formulación de las micropartículas de GDNF se han ensayado polímeros de distinto peso molecular (Resomer RG 502, Resomer RG 503 y la mezcla de los 2 polímeros) y con variabilidad en su grado de hidrofilia lo que condicionó las características finales de las micropartículas ya que aquellos polímeros de mayor peso molecular reducen la liberación inicial del producto encapsulado, mientras que los más hidrofílicos experimentan una degradación más rápida y por lo tanto una liberación más inmediata.

La composición de las fases variaba en cada caso, si bien pueden establecerse las siguientes generalidades. La fase A₁ estaba formada por tampón fosfato pH 7.9, el factor neurotrófico a encapsular, albumina y PEG. La fase orgánica O estaba formada por una mezcla de diclorometano y acetona en proporción 3:1 en la que se disolvió el polímero formador de las micropartículas. La fase A₂ fue una solución de un viscosizante en agua.

Una vez formada la emulsión el procedimiento general de evaporación, lavado y liofilización de las micropartículas fue el siguiente: la emulsión se mantuvo bajo agitación durante 2 horas, a temperatura ambiente. Las micropartículas obtenidas se lavaron 3 veces con 10 ml de agua mediante sucesivas centrifugaciones a 21.000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Finalmente se resuspendieron en agua, se congelaron a -80°C y se liofilizaron.

Caracterización de las micropartículas

Una vez obtenidas las partículas se caracterizaron en cuanto a tamaño y morfología. El tamaño de las micropartículas se determinó por espectroscopía de correlación fotónica usando un Mastersizer® (Malvern Instruments). Para ello se diluyó una cantidad suficiente de micropartículas en agua (rango de obscuración comprendido entre el 10 y el 30%). Las medidas se realizaron por triplicado. La morfología de las micropartículas fue examinada por microscopía electrónica de barrido (SEM).

Además se determinó el porcentaje de encapsulación del GDNF: La cantidad de GDNF encapsulada en las micropartículas fue cuantificada mediante ELISA. Para ello las partículas se rom-

Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

pieron en un disolvente apropiado y se extrajo la proteína añadiendo una solución acuosa.

También se estudió el perfil de liberación de la proteína *in vitro*. Para ello, una cantidad conocida de partículas se incubó a 37°C en un tampón fosfato de pH 7,4 y a intervalos previamente determinados se centrifugaron las muestras para cuantificar en el sobrenadante el GDNF liberado (mediante ELISA).

Estudios de la actividad del GDNF microencapsulado en cultivos celulares

Con éste ensayo se pretende evaluar si el GDNF encapsulado así como el liberado a partir de las micropartículas se mantiene en su forma activa. Para ello se ha escogido una línea celular, PC-12, obtenida a partir de un feocromocitoma de rata. Éstas células se caracterizan por tener una morfología redondeada y poco diferenciada que en presencia de factores neurotróficos (como el GDNF) cambia hacia un fenotipo de tipo neuronal que consiste en el crecimiento de neuritas ramificadas. Mediante RT-PCR se ha comprobado que éstas células poseen los dos receptores necesarios para que el GDNF pueda ejercer su acción: RET y GFR-1 (30). Además, nuestro grupo ha comprobado que en presencia de la proteína desnuda en el medio de cultivo, las células PC-12 experimentan un proceso de diferenciación neuronal con el consiguiente crecimiento de neuritas, en un proceso que es dosis dependiente (30).

El ensayo de diferenciación se realizó en placas de 12 pocillos, con 20 células/mm² en 1 ml de medio. Tras 24 horas se añadieron los distintos tratamientos por duplicado y se estudió el crecimiento axonal tras 7 días de tratamiento. Como control positivo se añadió a las células una solución estándar de GDNF a distintas concentraciones (de 0,1 a 50 ng/ml). Al mismo tiempo las células fueron adicionadas con alicuotas de los medios de liberación de las micropartículas a distintos tiempos (30 min, 24 h, y 7, 14, 21 y 28 días) así como el GDNF extraído de las micropartículas para confirmar la actividad del GDNF encapsulado y liberado. La respuesta celular al GDNF se determinó como el porcentaje de células que posean neuritas de un total de 200 células escogidas al azar y en varios campos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las micropartículas

Tamaño de las micropartículas y del rendimiento del proceso

El diámetro de las micropartículas obtenidas osciló entre 20 y 25 μm (independientemente del polímero utilizado en la formulación). Este tamaño es compatible con una administración en el cerebro mediante estereotaxia.

El rendimiento del proceso de fabricación, expresado en %, se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{mg micropartículas obtenidos}}{\text{mg iniciales de polímero}} \times 100$$

Los resultados obtenidos mostraron un rendimiento del proceso que varió entre el 62 y el 88%.

Análisis de la emulsión múltiple y morfología de las micropartículas

En los estudios de evaluación del procedimiento de fabricación de micropartículas se analizó el aspecto de la emulsión múltiple obtenida mediante microscopía de fluorescencia. Para ello, una vez obtenidas las micropartículas, estas fueron incubadas con un colorante fluorescente tal como la rodamina. La Figura 2 muestra el aspecto de las micropartículas. Todas las formulaciones obtenidas mostraron un aspecto homogéneo en cuanto a la formación de la emulsión y al tamaño de las gotículas internas.

La morfología de las micropartículas se analizó realizando fotografías de las mismas por micro-

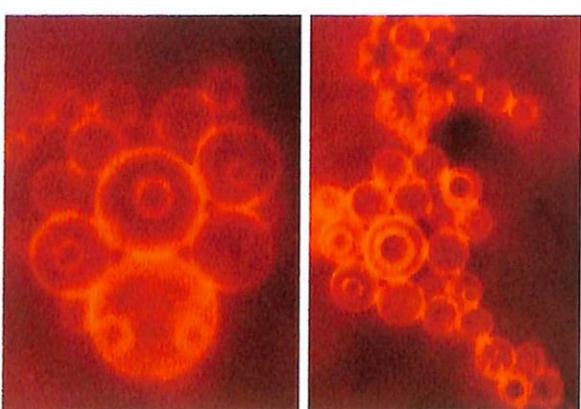


Fig. 2. Análisis del aspecto de la emulsión múltiple por microscopía de fluorescencia.

Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

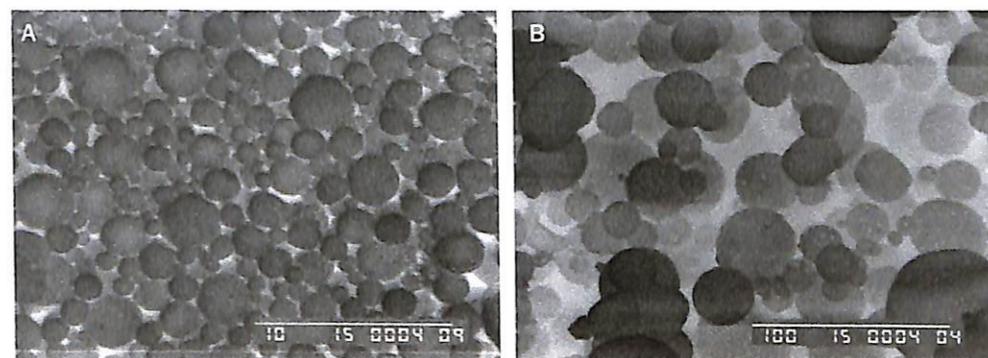


Fig. 3. Análisis de la morfología de las micropartículas por microscopía electrónica de barrido.

copía electrónica de barrido (SEM). Los resultados se muestran en la Figura 3.

Tanto las imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia como las obtenidas por microscopía electrónica de barrido nos permitieron confirmar el tamaño que previamente había sido determinado por difractometría de láser y que oscila en torno a las 25 micras.

Eficacia de encapsulación

La eficacia de encapsulación es el porcentaje de principio activo encapsulado en relación a la cantidad inicial. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{EE} (\%) = \frac{\text{Qencapsulada}}{\text{Qinicial}} \times 100$$

donde Qinicial es la cantidad inicial de principio activo por mg de polímero formador de micropartículas y Qencapsulada es la cantidad de principio activo encapsulado por mg de micropartículas.

La eficacia de encapsulación varió según la composición de las fases. Cuando la cantidad de GDNF a encapsular era baja (1 μg) se obtuvieron valores elevados de eficacias de encapsulación (próximos al 100%). Al aumentar la cantidad de

GDNF a encapsular disminuyeron las eficacias de encapsulación sin embargo en ningún caso fueron inferiores al 60%.

Estudio de la actividad del GDNF encapsulado

Para comprobar que el factor neurotrófico no se degradaba durante el proceso de fabricación de las micropartículas, se estudió la actividad del GDNF encapsulado por comparación con la actividad biológica de una cantidad conocida de dicha proteína. La respuesta de las células PC-12 al GDNF fue estudiada tras 7 días de tratamiento.

Como control positivo del estudio se utilizaron 5 mg de micropartículas vacías y una cantidad conocida de GDNF. Para el control negativo se utilizaron únicamente micropartículas vacías.

Los resultados (Figura 4) muestran que el GDNF no perdía su actividad durante el proceso de fabricación de las micropartículas. Tanto en el control positivo como en las células tratadas con GDNF encapsulado se observa el crecimiento de neuritas. El GDNF encapsulado produce sobre las células PC-12 el mismo efecto que el control

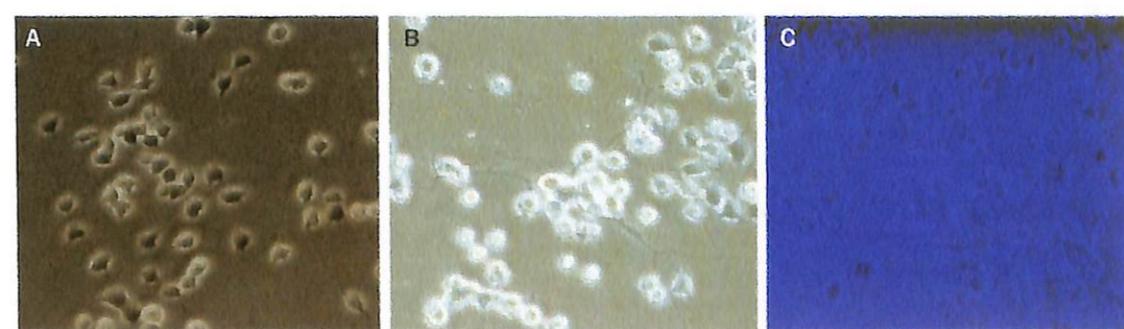


Fig. 4. Ensayo de diferenciación de células PC-12. (A) Control negativo (B) Control positivo y (C) Tratamiento con GDNF liberado de las micropartículas.

Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

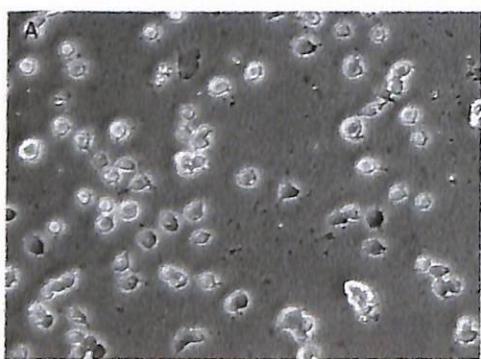


Fig. 5. Ensayo de diferenciación de células PC-12 A) Control negativo y B) Células PC-12 tratadas con GDNF liberado de las micropartículas.

positivo indicando que no pierde su actividad durante la preparación de las formulaciones.

Estudios de liberación *in vitro*

Las mejores formulaciones en cuanto a eficacia de encapsulación fueron seleccionadas y se estudió la liberación *in vitro* del GDNF encapsulado.

El GDNF liberado se cuantificó por ELISA y se comprobó la actividad del factor neurotrófico liberado mediante un ensayo de diferenciación de células PC-12 como el anteriormente descrito.

Los resultados mostraron que las micropartículas liberaban un 20% de la proteína a las pocas horas de incubación y al cabo de un mes el GDNF liberado fue de aproximadamente el 60%. Por otro lado se comprobó que el GDNF liberado durante al menos 1 mes es bioactivo (Figura 5).

CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas de este estudio son:

- Se desarrollaron con éxito micropartículas biodegradables y biocompatibles de PLGA cargadas con GDNF utilizando el TROMS para su preparación.

- Las micropartículas presentaron un tamaño adecuado para su administración en el cerebro.
- Las eficacias de encapsulación conseguidas son suficientes para la correcta dosificación de la proteína por tratarse de un factor neurotrófico activo a dosis muy pequeñas.
- El proceso de fabricación de las micropartículas no afecta a la actividad biológica del GDNF tal y como se pudo comprobar al estudiar la diferenciación morfológica de las células PC12 inducida por el factor neurotrófico encapsulado.
- Se ha obtenido un sistema que permite la liberación sostenida de GDNF bioactivo al menos durante un mes (tiempo suficiente para estudiar sus efectos en el cerebro de ratas hemiparkinsonianas).

Por todo lo citado anteriormente podemos afirmar que las micropartículas de GDNF son una prometedora estrategia para la administración de dicho factor neurotrófico en el tratamiento de la enfermedad de la EP. Próximamente se ensayarán las formulaciones seleccionadas en modelos animales de EP (ratas).

Referencias bibliográficas

1. Emborg, ME. Evaluation of animal models of Parkinson's disease for neuroprotective strategies. *J. Neurosci. Meth.*, 2004; 139: 121-143.
2. Arenas F, Trupp M, Akerud P, Ibañez CF. GDNF prevents degeneration and promotes the phenotype of brain noradrenergic neurons *in vivo*. *Neuron*, 1995; 15: 1465-1473.
3. Beck KD, Valverde J, Alexi T, Poulsen K, Vandlen RA, Rosenthal A, Hefti F. Mesecephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from

Garbayo Atienza E., Ansorena E., Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos: aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

- axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature*, 1995; 373: 339-41.
4. Cass WA. GDNF selectively protects dopamine neurons over serotonin neurons against the neurotoxic effects of metamphetamine. *J. Neurosci.*, 1996; 16: 8132-139.
 5. Tomac A, Lindqvist E, Lin LF, Ogren SO, Young D, Hoffer BJ, Olson L. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF *in vivo*. *Nature*, 1995; 373: 289-90.
 6. Tomac A, Widenfalk J, Lin LF, Kohno T, Ebendal T, Hoffer BJ, Olson L. Retrograde axonal transport of glial cell line-derived neurotrophic factor in the adult nigrostriatal systems suggests a trophic role in the adult. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 8274-278.
 7. Bowenkamp KE, David D, Lapchak PL, Henry MA, Granholm AC, Hoffer BJ, Mahalik TJ. 6-hydroxydopamine induces the loss of the dopaminergic phenotype in substantia nigra neurons of the rat. A possible mechanism for restoration of the nigrostriatal circuit mediated by glial cell line-derived neurotrophic factor. *Exp. Brain Res.*, 1996; 111: 1-7.
 8. Bowenkamp KE, Lapchak PA, Hoffer BJ, Bickford PC. Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses motor impairment in 16-17 month old rats. *Neurosci. Lett.*, 1996; 211: 81-84.
 9. Bowenkamp KE, Ujhelyi L, Cline EJ, Bickford PC. Effects of intra-striatal GDNF on motor coordination and striatal electrophysiology in aged F344 rats. *Neurobiol. Aging*, 2000; 21: 117-24.
 10. Choi-Lundberg DL, Lin Q, Chang YN, Chiang YL, Hay CM, Mohajeri H, Davidson BL, Bohn MC. Dopamine neurons protected from degeneration by GDNF gene therapy. *Science*, 1997; 277: 389-90.
 11. Choi-Lundberg DL, Lin Q, Schallert T, Crippens D, Davidson BL, Chang YN, Chiang YL, Bardwaj L, Bohn MC. Behavioral and cellular protection of rat dopaminergic neurons by an adenoviral vector encoding glial cell line-derived neurotrophic factor. *Exp. Neurol.*, 1998; 154: 261-75.
 12. Apostolidis C, Sandford E, Hong M, Mendez I. Glial cell line-derived neurotrophic factor improves intrastriatal graft survival of stored dopaminergic neurons. *Neuroscience*, 1998; 83: 363-72.
 13. Gash DM, Zhang Z, Ovadia A, Cass WA, Yi A, Simmerman L, Russell D, Martin D, Lapchak PA, Collins F, Hoffer BJ, Gerhardt GA. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature*, 1996; 380: 252-55.
 14. Grondin R, Zhang Z, Yi A, Cass WA, Maswood N, Andersen AH, Elsberry DD, Klein MC, Gerhardt GA, Gash DM. Chronic, controlled GDNF infusion promotes structural and functional recovery in advanced parkinsonian monkeys. *Brain*, 2002; 125: 2191-201.
 15. Kordower JH, Emborg ME, Bloch J, Ma SY, Chu Y, Leventhal L, McBride J, Chen EY, Palfi S, Roitberg BZ, Brown WD, Holden JE, Pyzalski R, Taylor MD, Carvey P, Ling Z, Trono D, Hantraye P, Deglon N, Aebischer P. Neurodegeneration prevented by lentiviral vector delivery of GDNF in primate models of Parkinson's disease. *Science*, 2000; 290: 767-73.
 16. Palfi S, Leventhal L, Chu Y, Ma SY, Emborg M, Bakay R, Deglon N, Hantraye P, Aebischer P, Kordower JH. Lentivirally delivered glial cell line-derived neurotrophic factor increases the number of striatal dopaminergic neurons in primate models of nigrostriatal degeneration. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 4942-4954.
 17. McBride JL, Kordower JH. Neuroprotection for Parkinson's disease using viral vector-mediated delivery of GDNF. *Prog. Brain Res.*, 2002; 138: 421-32.
 18. Kordower JH. In vivo gene delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor for Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 2003; 53: S120-S132.
 19. Gill SS, Patel NK, Hotton GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, Brooks DJ, Svendsen CN, Heywood P. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nature Medicine*, 2003; 9: 589-95.
 20. Bowenkamp KE, Hoffman AF, Gerhardt GA, Henry MA, Biddle PT, Hoffer BJ, Granholm AC. Glial cell line-derived neurotrophic factor supports survival of injured midbrain dopaminergic neurons. *J. Comp. Neurol.*, 1995; 335: 479-89.
 21. Winkler C, Sauer H, Lee CS, Bjorklund A. Short-term GDNF treatment provides long-term rescue of lesioned nigral dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *J. Neurosci.*, 1996; 16: 7206-215.
 22. Fox CM, Gash DM, Smoot MK, Cass WA. Neuroprotective effects of GDNF against 6-OHDA in young and aged rats. *Brain Res.*, 2001; 896: 56-63.
 23. Bowenkamp KE, Lapchak PA, Hoffer BJ, Miller PJ, Bickford PC. Intracerebroventricular clial cell line-derived neurotrophic factor improves motor function and supports nigrostriatal dopamine neurons in bilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Exp. Neurol.*, 1997; 145: 104-17.
 24. Kordower JH, Palfi S, Chen EY, Ma SY, Sendera T, Cochran EJ, Mufson EJ, Penn R, Goetz CG, Comella CD. Clinicopathological findings following intraventricular glial-derived neurotrophic factor treatment in a patient with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 1999; 46: 419-24.

Garbayo Atienza E., Ansorena E.,
Lanciego Pérez J.L., et al.

Microencapsulación de factores neurotróficos:
aplicación al tratamiento de la enfermedad de parkinson

- 25. Grondin R, Cass WA, Zhang Z, Standford JA, Gash DM, Gerhardt GA. Glial cell line-derived neurotrophic factor increases stimulus-evoked dopamine release and motor speed in aged rhesus monkeys. *J. Neurosci.*, 2003; 23: 1974-980.
- 26. Cass WA, Manning MW, Bailey SL. Restorative effects of GDNF on striatal dopamine release in rats treated with neurotoxic doses of metamphetamine. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2000; 914: 127-36.
- 27. Jollivet C, Aubert-Pouessel A, Clavreul A, Venier-Julienne MC, Montero-Menei CN, Benoit JP, Menei P. Long-term effect of intra-striatal glial cell line-derived neurotrophic factor-releasing microspheres in a partial rat model of Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.*, 2004; 356: 207-10.
- 28. Aubert-Pouessel A, Vernier-Julienne MC, Clavreul A, Sergent M, Jollivet C, Montero-Menei CN, Garcion E, Bibby DC, Menei P, Benoit JP. In vitro study of GDNF release from biodegradable PLGA microspheres. *J. Control. Release*, 2004; 95: 463-75.
- 29. Blanco-Prieto MJ, Durieux C, Dauge V, Fattal E, Couvreur P, Roques BP. Slow delivery of the selective cholecystokinin agonist pBC 264 into the rat nucleus accumbens using microspheres. *Journal of Neurochemistry* 1996; 67 (6): 2417-24.
- 30. Garbayo E, Aymerich MS, Lanciego JL, Blanco Prieto MJ. Expression and Purification of GDNF for its microencapsulation in drug delivery systems and application in Parkinson's disease. *Revista Mapfre Medicina*, 2006; 17: 166-71.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL: Base de una posible terapia para PES y otras encefalitis sarampionosas

Measles virus persistently infected cells are more sensitive to apoptosis induction by TRAIL: Basis for a potential therapy in SSPE and other measles virus encephalitis

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R. y Celma M. L.

Virología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid

RESUMEN

Introducción y objetivos: El virus del sarampión (VS) aparte de producir complicaciones graves respiratorias, gastrointestinales, encefalitis, ceguera y sordera que acompañan al sarampión y hacen que mate anualmente cerca de un millón de niños en el mundo, es el causante de encefalitis lentas como la Panencefalitis esclerosante subaguda (PES) o la Encefalitis sarampionosa de cuerpos de inclusión (MIBE). Para estas encefalopatías subagudas progresivas con desmielinización y atrofia cerebral, de curso mortal tras meses a décadas de evolución no se dispone actualmente de tratamiento efectivo. El objetivo de este estudio es la búsqueda de posibles tratamientos para eliminar selectivamente las células infectadas por el virus y así frenar el progreso de la infección y en último término la eliminación del virus del paciente.

Métodos: Estudio de sensibilidad a la inducción de apoptosis por la proteína TRAIL (TNF-related-apoptosis inducing ligand) de células humanas en cultivo sin infectar y persistentemente infectadas por VS. Estudio de los mecanismos de inducción de la apoptosis en la línea celular MOLT3, en la que nuestro laboratorio mostró por primera vez que VS puede inducir apoptosis.

Resultados: La infección persistente por VS hace que células humanas se hagan marcadamente más sensibles al sui-

ABSTRACT

Introduction: Measles virus (MV) causes acute infections with severe respiratory, neurological, deafness, blindness and gastrointestinal complications that today still kill near one million children annually worldwide. The late measles complications Subacute Sclerosing Panencephalitis (SSPE) or Measles Inclusion Bodies Encephalitis (MIBE) show a protracted progressive and fatal course and for them no efficient treatment is currently available. This work aims to find a way to selectively destroy the infected cells, and doing so limit the progression of VS through the infected brain and eventually to eliminate the virus from the patient with SSPE or MIBE.

Materials and Methods: Sensitivity to apoptosis induced by exogenous recombinant TRAIL was determined in steady-state MV persistently infected human cell line MOLT3 versus uninfected cells, by chromatin condensation, TUNEL, and caspases activation assays. Expression of TRAIL functional receptors (TRAIL-R1 y TRAIL-R2) and decoy receptors (TRAIL-R3 and TRAIL-R4) was determined by flow cytometry and western-blots. mRNAs of pro- and antiapoptotic factors were quantitated by RT-PCR and RNase protection assays. Activation of NFkB by EMSA and supershift electrophoretic assays.

Results: MV persistently infected MOLT3 cells became highly sensitive to apoptosis induced by exogenous

Correspondencia:
R. Fernández-Muñoz
Departamento de Virología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid
rafael.fernandez@hrc.es

Beca de investigación de FUNDACIÓN MAPFRE.

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

cidio celular inducido por TRAIL exógeno. El mecanismo de esta sensibilización podría explicarse por un aumento de la expresión en la superficie celular de las células infectadas de los receptores funcionales para TRAIL, junto con una reducción de la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl2 y una estimulación de la quinasa Akt y del factor de transcripción NFkB, lo que provocaría el suicidio de las células infectadas.

Conclusiones: Células persistentemente infectadas por VS son más sensibles a la inducción de suicidio por apoptosis mediado por TRAIL que las células no infectadas. El tratamiento con TRAIL al eliminar las células infectadas podría frenar la progresión del virus o incluso eliminarlo en pacientes con encefalitis subagudas causadas por VS como SSPE o MIBE.

Palabras clave:

Encefalitis lentas, virus del sarampión, sensibilización a TRAIL, apoptosis en células infectadas, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalitis sarampionosa de cuerpos de inclusión.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 249-258

TRAIL. This sensitization could be explained by the observed MV infection up-regulation in the infected cells of the expression of TRAIL functional receptors TRAIL-R1 and TRAIL-R2 and down-regulation of the expression of anti-apoptotic factor Bcl2 and activation of the protein-kinase Akt and NF-kB that would provoke the suicide of the infected cells.

Conclusiones: The high sensitization to induced apoptosis by exogenous TRAIL observed in MV persistently infected cells suggest that treatment with recombinant TRAIL could selectively eliminate MV infected cells in the CNS of patients and it could be possible to exploit this agent for the treatment of SSPE or MIBE encephalopathies.

Key words:

Slow viral encephalitis. Measles virus. Sensitization to TRAIL. Induced apoptosis. Subacute Sclerosing Panencephalitis. Measles Virus Inclusion Bodies Encephalitis.

INTRODUCCIÓN

El virus del sarampión (VS), a pesar de disponerse de una vacuna efectiva en países desarrollados, todavía mata cerca de un millón de niños anualmente en todo el mundo (1).

A parte de complicaciones respiratorias y gastrointestinales graves, sordera, ceguera y encefalitis que acompañan al sarampión, el VS causa encefalitis subagudas como son la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE) o la encefalitis de cuerpos de inclusión (MIBE) (2,3). Estas encefalopatías lentas en las que el virus pasando de célula a célula adyacente invade el cerebro, cursan con desmielinización y atrofia cerebral y son de curso mortal tras meses o décadas de evolución (4,5). Para estas encefalopatías no se conoce hoy ningún tratamiento eficaz (6) al ser menos eficiente la respuesta inmune humoral y celular anti VS en estos pacientes, posiblemente por no exponer la células infectadas en su superficie suficientes antígenos del virus.

Por otro lado no se dispone actualmente de antivirales anti-sarampión eficaces y el VS, como hemos observado en nuestro laboratorio, es resistente a la acción antiviral del Interferón I (7).

Resultados previos de nuestro laboratorio (8,9), corroborados por Esolen et al. (10), mostraron que VS es capaz de inducir muerte celular programada (apoptosis) en las células que infecta. Así en infección lítica por VS de células linfoides humanas MOLT3 a los 6 días de infección más del 50% de las células sufren apoptosis, constituyendo el primer caso observado de inducción de apoptosis inducida por infección por un virus.

Hemos observado que la apoptosis inducida por VS en infecciones líticas está mediada no sólo por el sistema de transmisión de señales desde el receptor Fas: FasL (11), sino también por el sistema TRAIL:TRAIL-R (12).

Debido a que TRAIL induce apoptosis y mata preferentemente células tumorales humanas, recientemente se está ensayando en cultivos y en ensayos clínicos en pacientes la posibilidad de emplear este factor biológico para el tratamiento del cáncer (13).

El objetivo de este trabajo es el comparar la sensibilidad a la inducción de apoptosis por TRAIL exógeno de células humanas persistentemente infectadas por VS en comparación con las células sin infectar. Nuestro hallazgo de que las células persistentemente infectadas por VS están

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

altamente sensibilizadas a sufrir apoptosis por TRAIL sugiere que podría ensayarse eliminar selectivamente las células infectadas por VS en encefalitis lentas como SSPE o MIBE con el fin de retrasar el avance de la enfermedad y en último término el eliminar el virus de los pacientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon la línea celular humana linfoblástoide MOLT3 y la línea MOMP3 obtenida y mantenida en cultivo en nuestro laboratorio tras establecer una persistencia estacionaria por infección de la línea celular MOLT3 por el virus VS persistente MOMP obtenido previamente en nuestro laboratorio (14). Las células MOLT3 y MOMP3 se trataron con TRAIL recombinante a una concentración de 100-200 ng/ml. por 16 horas en presencia o ausencia de anticuerpo específico ambos obtenidos de Alexis Corporation.

La inducción de apoptosis se monitorizó por ensayos de fragmentación del DNA celular (TUNEL) o condensación cromatínica observada por teñido con Naranja de Acrídina y contaje de núcleos apoptóticos por microscopía de fluorescencia. La expresión de proteínas en la superficie celular se realizó por tinción con anticuerpos específicos mediante citometría de flujo. La expresión de proteínas intracelulares se realizó por citometría de flujo en células fijadas y posteriormente permeabilizadas con saponina así como por Western Blot tras electroforesis en geles SDS-PAGE y transferencia a membranas d PVDF (Immovilon P-Millipore y revelado con Ab-HRP y detección por ECL (Pharmacia) (15). Se emplearon anticuerpos Anti-human TRAIL (H257, Santa Cruz Ltd.), anti-human TRAIL R1 (B9, Santa Cruz Ltd.), Anti-human TRAI L-R2 (AM62, Oncogene Ltd.) Anti human TRAIL R3, Anti human TRAIL R4, Akt, Bcl2, Bax, Bak, Bcl X de Santa Cruz Ltd. Fas-L (NOKI de Pharmingen Ltd.). Anti- Fas (CH11 de Kamiya Ltd.). Anti VS-Hemaglutinina (MoAb H55 obtenido en nuestro laboratorio). La cuantificación de RNA mensajero se realizó bien por RT-PCR a partir de c-DNA obtenidos de RNA total tratado con DNAsas con cebadores específicos incorporando alfa-P32 dCTP y autoradiografía, o por ensayos de protección frente a RNAsas y de sondas específicas mar-

cadas radiactivamente y electroforesis en geles. El análisis de los complejos transcripcionales de NF-kB se realizó con extractos nucleares incubados con oligonucleótidos marcados radiactivamente con P32 y ensayo de retraso en electroforesis en geles (EMSA) confirmados por retraso adicional (Supershift) tras unión a anticuerpos anti-NFkB p50. Los ensayos de activación del enzima Akt se realizaron mediante la medida de la fosforilación mediante anticuerpos específicos para pAkt (Cell Signalling Technologies).

RESULTADOS

La interacción de TRAIL con su receptor TRAIL-R contribuye a la inducción de apoptosis causada en la infección lítica por virus del sarampión.

Un trabajo previo de nuestro laboratorio (8,9) demostró por primera vez que un virus, el virus del sarampión (VS) puede matar las células que infecta, induciendo suicidio celular, denominado apoptosis por los descubridores de este fenómeno en 1981. El hallazgo lo realizamos infectando las células linfoblastoides humanas MOLT3 con variante de VS MOMP1 (8) obtenido de una infección persistente con baja capacidad fusogénica, el cual al no fundir estas células nos permitió observar la apoptosis no enmascarada por la formación de sincitos, que es el efecto citopático prominente por VS. En nuestra comunicación previa mostramos también que la inducción de apoptosis por VS iba acompañada de una estimulación del receptor de muerte celular Fas y de su ligando FasL. En este trabajo hemos comenzado por estudiar la posible implicación de la proteína inductora de muerte celular TRAIL (Apo2/) y sus receptores funcionales e inhibidores (receptores señuelo que secuestran TRAIL sin transmitir señal de suicidio celular) en la apoptosis causada por infección por VS. En infección lítica de células MOLT3 por VS observamos estimulación de la expresión de la proteína TRAIL anclada en la membrana celular (peso molecular de 32 Kdaltons) (Figura 1a y 1b), así como la de TRAIL soluble. Este aumento desde 48 horas post infección se produce simultáneamente con el del número de células que sufren apoptosis (Figura 2). Para comprobar que la estimulación en la expresión de

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

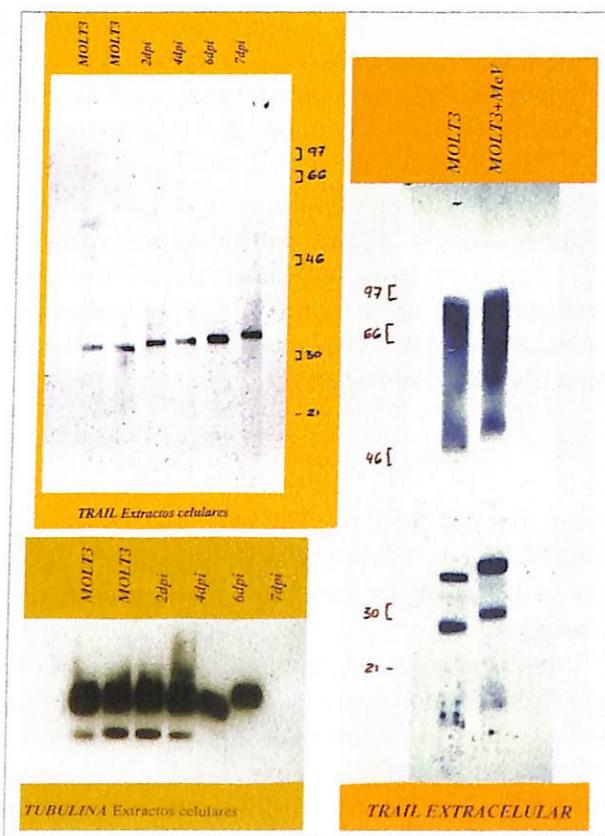


Fig. 1. Expresión de la proteína TRAIL y de sus receptores en infección lítica de células MOLT3 con Virus del sarampión (VS). Panel 1A: Expresión de la proteína TRAIL intracelular a lo largo de la infección analizada por electroforesis en geles y transferencia "Western blot". Se incluye tubulina como control y expresión de proteína TRAIL extracelular de cuatro días postinfección. Se indican pesos moleculares en miles de daltons. Panel 1B: Cuantificación de la proteína TRAIL por Citometría de flujo a lo largo de la infección, la infección se monitorizó cuantificando la expresión de la proteína viral Hemaglutinina (H).

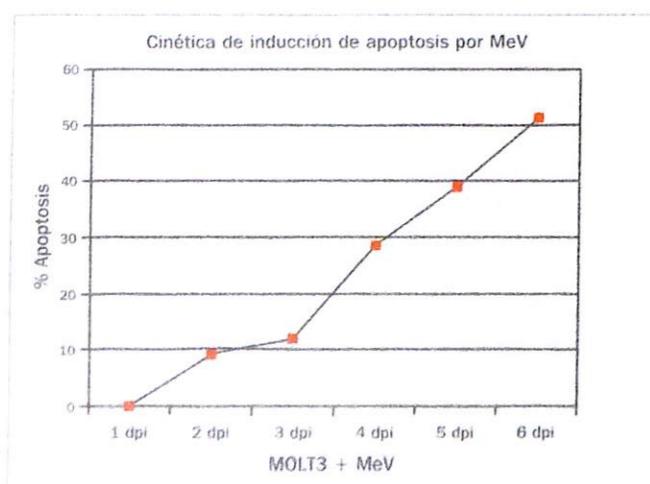


Fig. 2. Cinética de producción de apoptosis a lo largo de la infección lítica de células MOLT3 por VS. La apoptosis se cuantificó a los diferentes tiempos postinfección por tinción de núcleos celulares con Naranja de Acridina y conteo de núcleos apopóticos por microscopía de fluorescencia, mostrándose un experimento típico.

TRAIL como la de Fas está involucrada en la inducción de apoptosis por el virus realizamos ensayos de infección en presencia de anticuerpos anti-TRAIL neutralizantes. Un experimento representativo se muestra en la Figura 3, observándose que anticuerpos neutralizantes anti-TRAIL inhiben significativamente la inducción de apoptosis por infección con VS, como también inhiben anticuerpos neutralizantes anti-Fas y anti-FasL. Así estos resultados indican que además del sistema Fas:FasL, el sistema TRAIL:TRAIL-R está implicado en la inducción de apoptosis por VS en células sensibles a este agente biológico.

Las células humanas MOLT3 persistentemente infectadas por el virus del sarampión, MOMP3, son más sensibles a apoptosis inducida por TRAIL exógeno, que las células no infectadas.

Se comparó el número de células apoptóticas tras la adición de TRAIL recombinante a cultivos

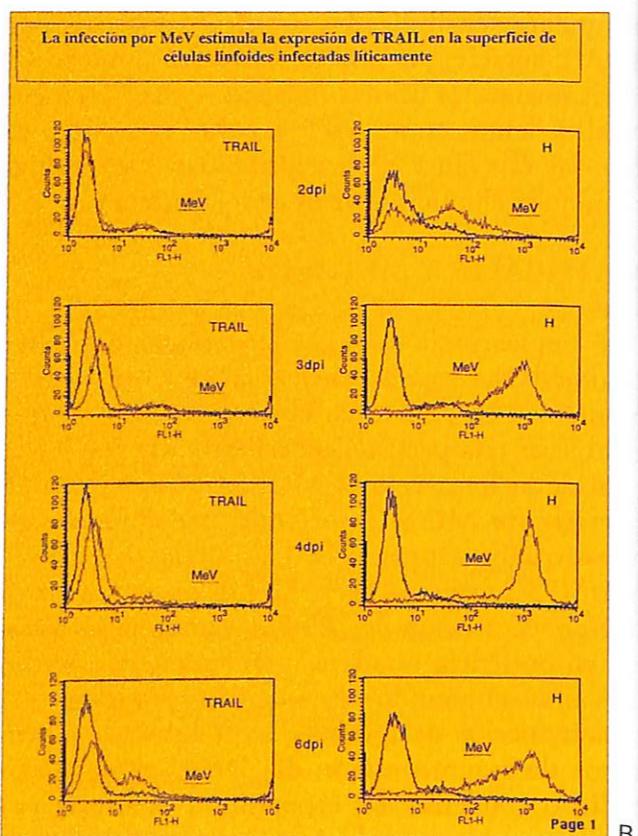


Fig. 3. Ensayo de neutralización de inducción de apoptosis en infección lítica por VS empleando anticuerpos neutralizantes frente a TRAIL, Fas y FasL. Se muestra un experimento típico.

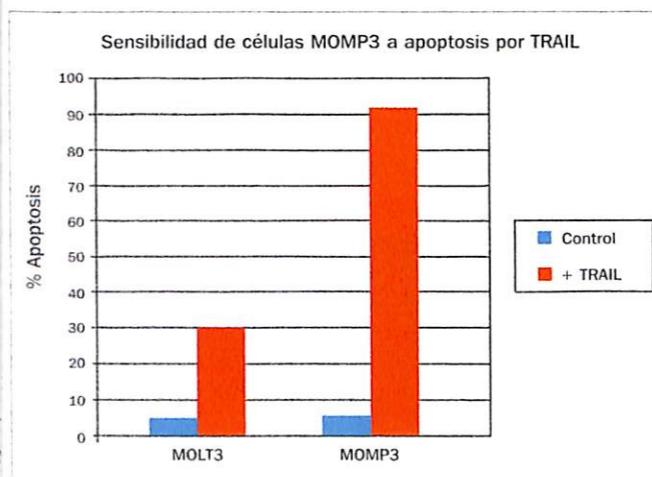


Fig. 4. Inducción de apoptosis en células no infectadas (MOLT3) y células persistentemente infectadas por VS (MOMP3) por TRAIL exógeno. La apoptosis se cuantificó por conteo de núcleos celulares apoptóticos por Naranja de Acridina y determinación de degradación del ADN mediante ensayo TUNEL. Se muestra un experimento típico.

de células sin infectar, MOLT3, y persistentemente infectadas por VS MOMP3, línea establecida en nuestro laboratorio a partir de un virus persistente (8) en células MOLT4. Como se observa en la Figura 4 las células persistentemente infectadas son marcadamente más sensibles que las no infectadas a la acción apoptótica de TRAIL. Tras el tratamiento con TRAIL a una concentración de 100 nanogramos por mililitro durante 5 horas

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

más del 90% de las células infectadas por VS mueren por apoptosis. En la Figura 5 se muestra un experimento típico de tinción de núcleos apoptóticos con naranja de acridina.

Mecanismos por los que VS causa la sensibilización a TRAIL. Para entenderlos hemos cuantificado la expresión distintos receptores y efectores de muerte celular en las células persistentemente infectadas por VS y células no infectadas.

Las células persistentemente infectadas por el virus del sarampión se sensibilizan a la acción de TRAIL exógeno por sobre-expresión de los receptores funcionales para TRAIL y la inhibición de la expresión de Bcl-2 y de la activación de Akt y de NFkB.

Hemos observado que la expresión de la proteína TRAIL endógena que se expresa en la membrana celular como la forma soluble así como la del RNA mensajero que la codifica se encuentran disminuidos en las células persistentemente infectadas MOMP3 con relación a las células no infectadas MOLT3 (Figura 6). Sin embargo, observamos que los receptores de TRAIL y sus correspondientes RNA mensajeros, tanto los receptores funcionales TRAIL-R1 y TRAIL-R2, que transmiten la señal de apoptosis, como los recep-

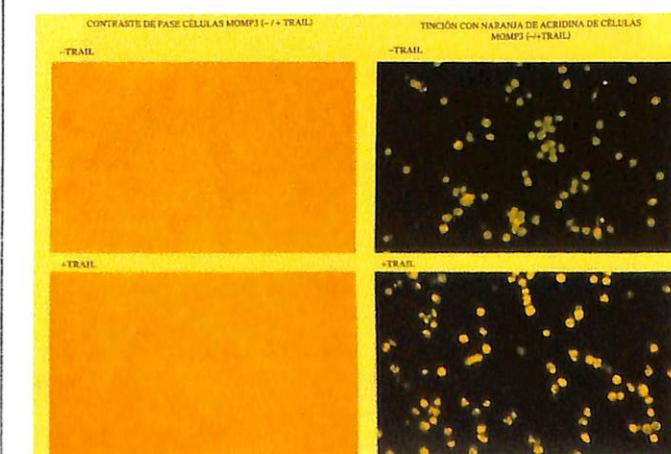
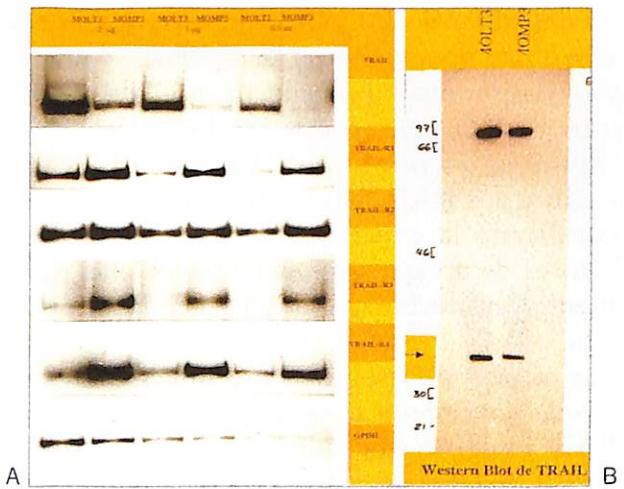


Fig. 5. Inducción de apoptosis por TRAIL exógeno en células persistentemente infectadas por VS (MOMP3). Se muestran microfotografías típicas en contraste de fase (columna izquierda) y fluorescencia tras tinción con Naranja de Acridina (columna derecha). Se observa la pérdida de la refringencia y la condensación y fragmentación de la cromatina en la casi totalidad de las células infectadas. (Aumento 200x).

Duque B. M., Martín-Cortés A., Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL.



A

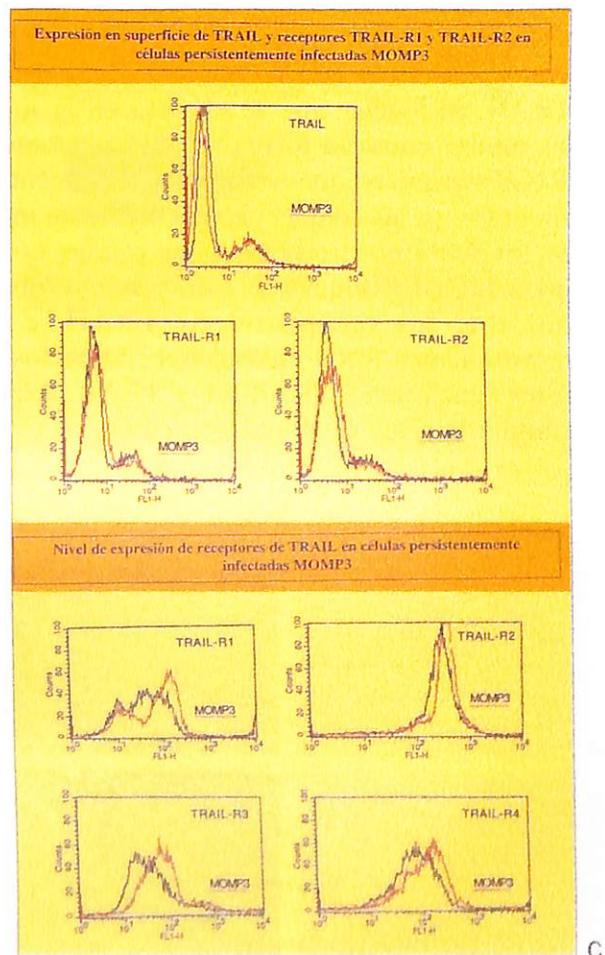


Fig. 6. Expresión de TRAIL y de sus receptores en células no infectadas y persistentemente infectadas por VS. Panel A: Cuantificación de RNA mensajero de TRAIL y sus receptores por RT-PCR incluyendo control de mRNA celular GPDH. Panel B: Expresión de proteína TRAIL intracelular mediante ensayo de «Western Blot». Panel C: Expresión de TRAIL y sus receptores en superficie celular y en células permeabilizadas mediante Citometría de Flujo.

tores señuelos TRAIL-R3 y TRAIL-R4, que la bloquean secuestrando las moléculas de TRAIL, se expresan más en las células persistentemente infectadas por VS (Figura 6). Estos resultados sugieren que la represión del sistema TRAIL es importante para el mantenimiento de la persistencia del virus.

La resistencia a sufrir apoptosis por tratamiento con TRAIL observada en algunas células tumorales se ha correlacionado con la pérdida o mutación inactivante de la caspasa 8, proteasa efectora de la apoptosis, o con el aumento de la expresión de FLIP, proteína inhibidora de la caspasa 8. En las células MOLT3 y en las mismas persistentemente infectadas MOMP3 hemos observado que predominantemente se expresa el isoformo de 28 Kdaltones C-FLIPs, a niveles similares. (Figura 7). Sin embargo se observó (datos no mostrados) que la forma de mayor peso molecular de FLIP, FLIP2 se expresa a niveles

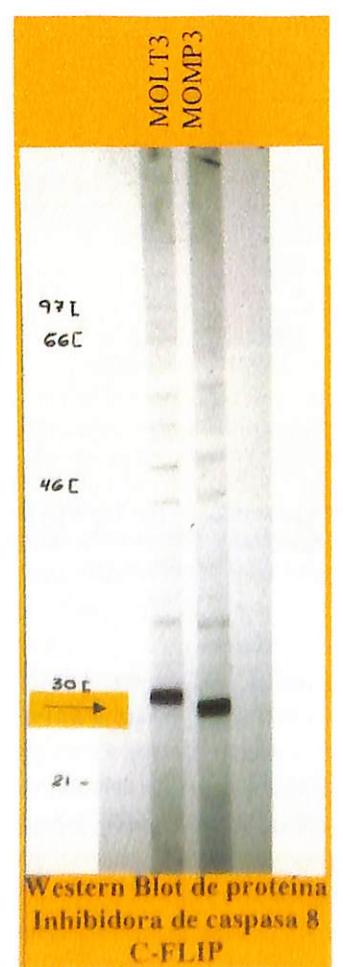


Fig. 7. Expresión del inhibidor de apoptosis cFLIP en células no infectadas y persistentemente infectadas por VS por ensayo de western blot.

Duque B. M., Martín-Cortés A., Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL.

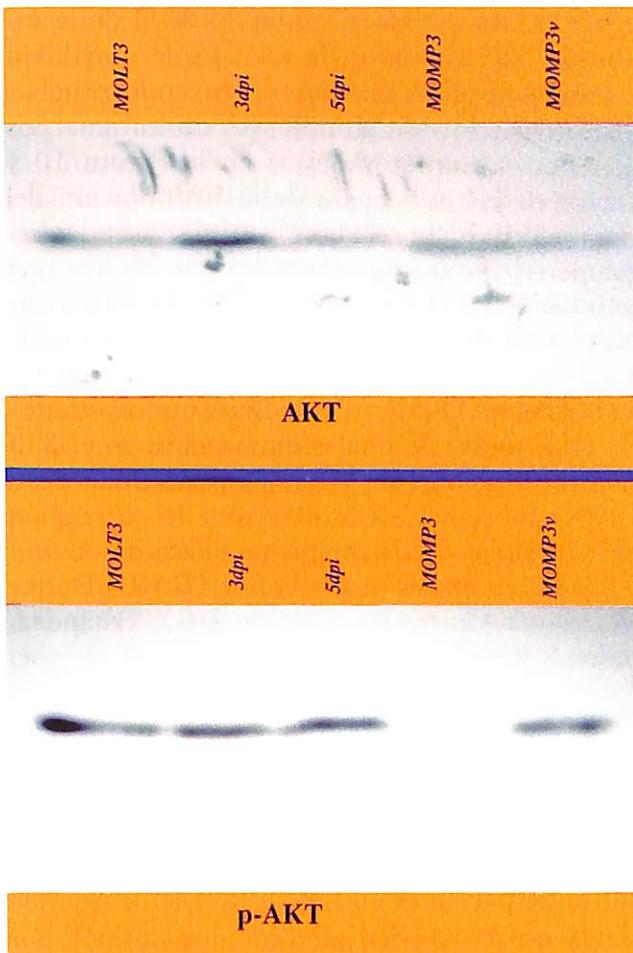


Fig. 8. Determinación de la proteína quinasa Akt y de su activación por fosforilación en células no infectadas y persistentemente infectadas por VS por ensayo de western blot.

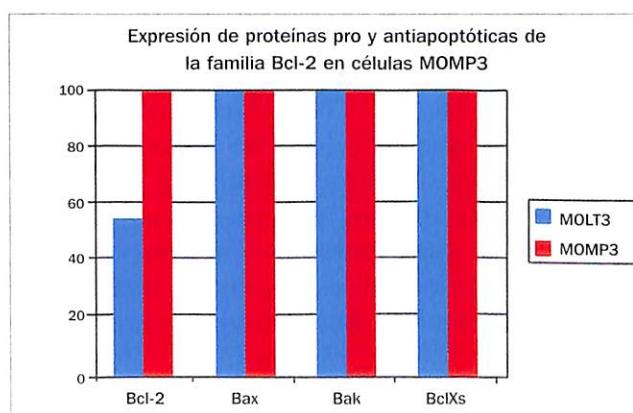


Fig. 9. Expresión de proteínas reguladoras de apoptosis de la familia Bcl2 en células no infectadas y persistentemente infectadas por VS. Las proteínas se cuantificaron a partir de electroforesis en geles y transferencia «Western Blot» y se representa un experimento.

más altos en las células persistentemente infectadas por VS lo que podría contribuir al mantenimiento de la persistencia del virus en ausencia de TRAIL.

La disminución del nivel de fosforilación de la protein-kinase B/Akt se ha correlacionado con la sensibilización a la inducción de apoptosis por tratamiento con TRAIL en varios estudios.

Nosotros observamos en las células persistentemente infectadas por VS MOMP3 una disminución en el nivel de fosforilación de esta proteína con respecto a las células no infectadas MOLT3 (Figura 8).

La inducción de apoptosis por TRAIL puede inhibirse por un aumento en la expresión de la proteína antiapoptótica por la ruta mitocondrial Bcl2 (16). Al ensayar los niveles de expresión de Bcl2 y otras proteínas pro y antiapoptóticas relacionadas, Bak, Bax y BclX_S observamos que en las células persistentemente infectadas hay una reducción en la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl2, lo que podría contribuir a la sensibilización a esta molécula causada por la infección del virus (Figura 9).

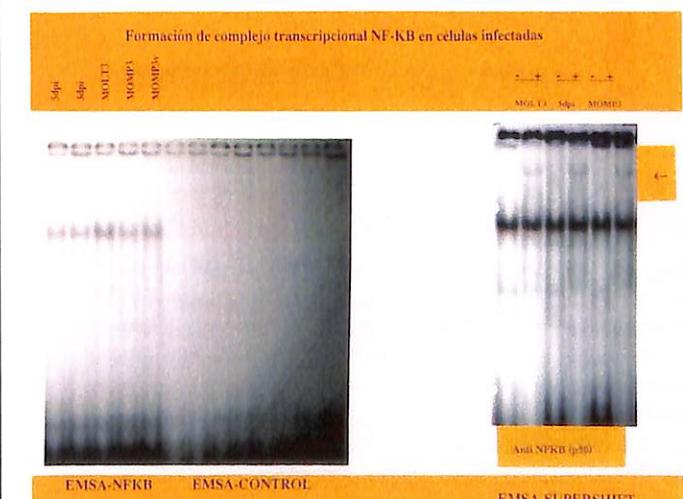


Fig. 10. Desactivación del factor NF-κB en células persistentemente infectadas por VS. Ensayo de formación de complejos de transcripción específicos par NF-κB sobre sondas marcadas radiactivamente con Fósforo 32 (P32) por retraso de la sonda en electroforesis en gel (EMSA). Se incluye control de sonda mutada. Con una flecha se indica el complejo mayoritario NF-κB (panel izquierdo). En el panel derecho se confirma la especificidad del complejo mediante el retraso de su movilidad por unión de anticuerpo específico ant-NF-κB p50. (ensayo Supershift).

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

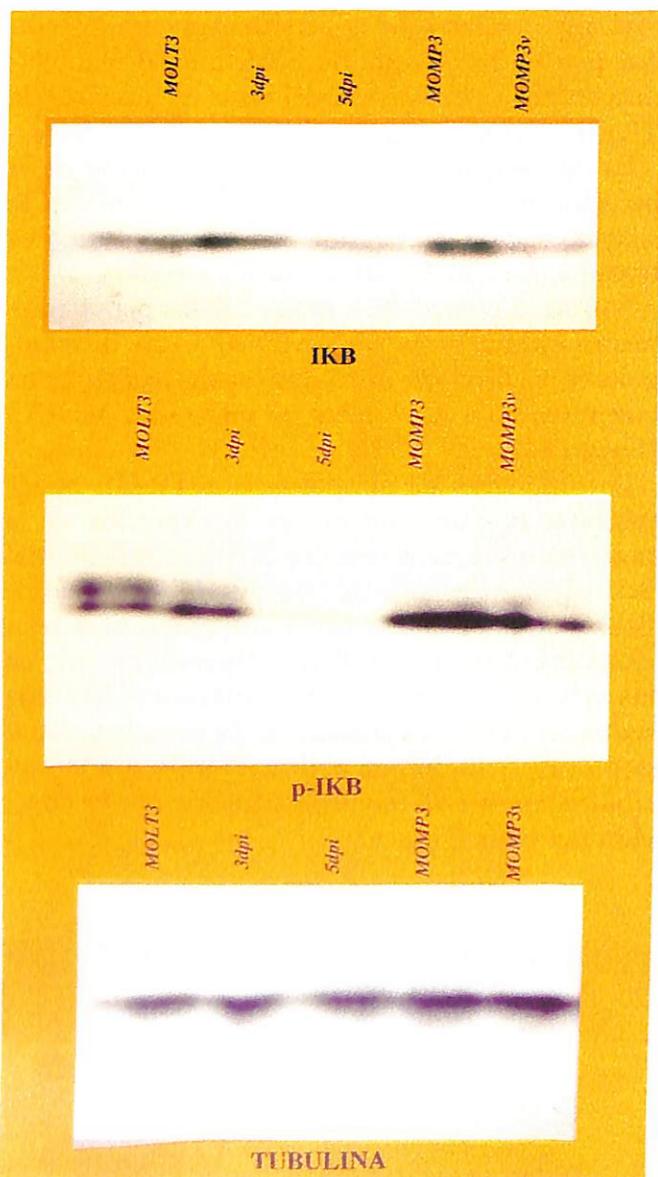


Fig. 11. Desactivación del factor NF_kB en las células persistentemente infectadas por VS. Determinación de la fosforilación del inhibidor de la ruta NF_kB IKB por «Wester Blot» en células no infectadas MOLT3 y persistentemente infectadas por V. MOMP3. Se incluye como control la expresión de tubulina. La inhibición de la fosforilación de IKB en las células infectadas por VS reduce su degradación y así se desactiva la ruta NF_kB lo que podría sensibilizar estas células a la inducción de apoptosis por TRAIL.

La familia de reguladores de transcripción NF-_kB juega un papel importante en una amplia serie de procesos fisiopatológicos como la respuesta inmune e inflamatoria, desarrollo y diferenciación, transformación maligna y apoptosis (17). Así NF_kB puede regular la expresión de varias

proteínas con actividad antiapoptótica de la familia de Bcl2. Ensayos de retardo de movilidad de sondas en geles (EMSA) incluyendo pruebas de confirmación de complejos con anticuerpos específicos como se muestra en la Figura 10 y ensayos de cuantificación de la fosforilación del cofactor IκB (Figura 11), indicaron que en las células persistentemente infectadas por VS hay una disminución en la activación del factor NF_kB que podría a su vez contribuir a la sensibilización de las células infectadas por el virus a la apoptosis mediada por TRAIL. Parte de estos resultados han sido objeto de una comunicación en el VIII Congreso Nacional de Virología, Barcelona 12 al 15 de Octubre del 2003: «El virus del sarampión eleva en células persistentemente infectadas la sensibilidad a apoptosis mediada por TRAIL» (Duque BM, Martín-Cortés A., Villalón DG, Fernández-Muñoz R y Celma ML).

DISCUSIÓN

Resultados previos han demostrado que VS es capaz de producir suicidio celular por apoptosis en cultivos celulares como en el Sistema Nervioso Central de pacientes con SSPE (8,9,10). Aunque todavía no se conocen bien los mecanismos por los que se produce la citopatología por VS, nuestros resultados indican que el virus causa apoptosis activando las caspasas 8 y 3 a través de señales desde los receptores en la membrana celular para las proteínas FasL/Apo1L y de TRAIL/Apo2L. Observamos que las células humanas MOLT3 persistentemente infectadas por VS son marcadamente más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) que las células no infectadas. Con respecto a los posibles mecanismos de esta sensibilización a apoptosis, por lo que se conoce, probablemente sean múltiples y afecten a los receptores, rutas próximas a la superficie celular, y otras rutas como la mitocondrial. Hemos observado que tanto los RNA mensajeros como las proteínas receptores de TRAIL que transmiten señal, TRAIL-R1 y TRAIL-R2 como los que la bloquean TRAIL-R3 y TRAIL-R4 están estimulados en las células infectadas, aunque solo los receptores funcionales se sobre-expresan en la superficie celular de las células infectadas. El inhibidor de

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

caspasas FLIP, al que se atribuye la resistencia a apoptosis de algunas células tumorales, se expresa mayoritariamente igual en las células infectadas y no infectadas. Sin embargo la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl2 observamos que está disminuida en las células infectadas. Por otro lado en las células infectadas observamos que la fosforilación de la protein-kinasa B/Akt está disminuida en las células infectadas. La disminución de esta fosforilación se ha correlacionado por varios autores con la sensibilización a inducción de apoptosis por TRAIL observada para algunas células tumorales. En conjunto la sobre-expresión de receptores funcionales para TRAIL en la superficie de las células infectadas por VS, unido a la reducción en estas células de la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl2 y de la activación de Akt y NF-KB podrían explicar nuestra observación de la mayor sensibilidad a TRAIL exógeno en las células persistentemente infectadas por VS que entran en suicidio por apoptosis. Resultados preliminares recientes de nuestro laboratorio indican que también las células epiteliales humanas

293 persistentemente infectadas por un VS recientemente aislado de un paciente son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL exógeno que las células no infectadas. TRAIL puede inducir apoptosis en células nerviosas (18,19) y actualmente en nuestro laboratorio estamos ensayando el efecto de la infección persistente por VS de células neuronales y gliales.

Estos resultados sugieren que TRAIL podría ser ensayado sólo o en combinación con otros fármacos en la terapia de infecciones persistentes por VS como las encefalitis SSPE o MIBE, eliminando selectivamente las células infectadas y limitando así la expansión del virus a través del cerebro de los pacientes. En este momento parece de interés el ensayar la eliminación de VS de cultivos celulares persistentemente infectados mediante tratamiento combinado con TRAIL, Interferón -alfa (20) y moléculas sin RNA interferentes silenciadores de los genes virales (21) que hacen a VS resistente a la acción del Interferón-alfa, identificados y diseñados recientemente en nuestro laboratorio (6 y Fernández-Muñoz et al. Observaciones no publicadas).

Referencias bibliográficas

- Griffin D E. Measles Virus. In Field's Virology. Knipe DM and Howley PM. Editors. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, US. 4th edition 2001;1401-1442.
- Herndon R M and Rubinstein L J. Light and electron microscopy observations on the development of viral particles in the inclusions of Dawson's encephalitis (Subacute sclerosing panencephalitis). Neurology 1968; 33: 544-53.
- Roos R P, Graves M C, Wollman R L., et al. Immunologic and virologic studies of measles inclusion bodies encephalitis (MIBE) in an immunosuppressed host. The relationship to subacute sclerosing panencephalitis. Neurology 1981; 31: 1263-270.
- Budka H, Urbanits S, Loberski P P, et al. Subacute measles virus encephalitis : A new and fatal opportunistic infection in a patient with AIDS. Neurology 1996; 46: 586-87.
- Backo K, Liebert U G, Billeter M, et al. Expression of defective measles virus genes in brain tissues of patients with Subacute Sclerosing Panencephalitis. J. Virology 1986; 59: 472-78.
- Tomoda A, Shirasaki S, Hosoya M, et al. Combined treatment with Interferon-alfa and ribavirine for
- Subacute Sclerosing Panencephalitis. Pediatric. Neurol. 2001; 24: 54-59.
- Liton P B. Mecanismos de Evasión del Virus del Sarampión a la Respuesta Inmune. Tesis Doctoral de Universidad Autónoma de Madrid, 2001: 34-53.
- Fernández-Muñoz R and Celma M L.. Host cell and viral factors in the establishment of persistent infections and cell fusion cytopathology by measles virus in human lymphoblastoid cell lines. Virus Research Supl. 1988, 2: 80
- Caballero M. Bases Moleculares de Persistencia Viral y Muerte Celular por Sarampión. Tesis Doctoral , Universidad Autónoma de Madrid. 1996: 96-02.
- Esolen L M, Park SW, Hardwick J M,, and Griffin DE. Apoptosis as a cause of death in measles virus -infected cells. J. Virology 1995; 69: 3955-958.
- Fernández-Muñoz R, Caballero M, Carabaña J and Celma M L.: Measles virus can induce apoptotic cell death in cultured human cells. In the Proceedings of the Nine International Conference on Negative Strand Virus. Edited by Kolakofsky D and Mahy B. 1994; 173.

Duque B. M., Martín-Cortés A.,
Fernandez-Muñoz R., et al.

Células persistentemente infectadas por el virus del sarampión son más sensibles a la inducción de apoptosis por TRAIL

12. Pitti RM, Masters SA, Ruppert C, et al. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the Tumor necrosis Factor cytokine family. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 1287-290.
13. Sun SYP, Yue JY, Zhou Y, et al. Overexpression of BCL2 blocks TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis in lung cancer cells. *Biophys. Res. Commun.* 2001; 280 : 788-97.
14. Celma ML, and Fernández-Muñoz R. Measles virus from a long-term persistently infected human T lymphoblastoid cell line, in contrast to the cytidic parental virus, establishes an immediate persistence in the original cell line. *J. Gen Virol.* 1992; 73: 2195-202.
15. Caballero M, Carabaña J, Ortego J. Measles Virus fusion Protein is Palmitoylated on Transmembrane-Intracytoplasmic Cysteine Residues which participate in Cell Fusion. *J. Virol* 1998; 72: 8198-204.
16. Kim Y, Kim Y, Sporn M, Reed JC. An Inducible Pathway for Degradation of FLIP Protein Sensitizes
- Tumor Cells to TRAIL-induced Apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2003; 277: 22320-329.
17. Hershey P and Zhang XD. How melanoma cells evade TRAIL-induced apoptosis. *Nature Rev Cancer* 2001; 1: 142-50.
18. Suliman A, Lam A, Datta R, et al. Intracellular mechanisms of TRAIL : Apoptosis through mitochondrial-dependent and independent pathways. *Oncogene* ,2001; 20: 2122-133.
19. Milani D, Zauli G, and Rimondi R. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand sequentially activates pro-apoptotic pathways in SK-N-MC neuronal cells. *J. Neurochemistry* 2003; 86: 126-35.
20. Kumar_Sinha C, Varamballi S, Sreekumar A, et al.Kumar-Sinha C.. Molecular Cross-talk between the TRAIL and Interferon Signaling Pathways. *J. Biol. Chem.* 2002; 276: 575-85.
21. Hannon G J. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244-51.

Masa hilar izquierda en paciente con estenosis valvular pulmonar

Enlargement left hilar in a man with pulmonary valvular stenosis

Bartolomé Villar A.¹, García Méndez P.², Moral Pascual J. M.³, Delgado Lacosta A.², Llamas Cascón E.², de la Gala Sánchez F.¹, Rey Naya J.⁴

¹ Servicio de Diagnóstico por Imagen. Centro de Rehabilitación FREMAP. Majadahonda. Madrid

² Servicio Medicina Interna. Centro de Rehabilitación FREMAP. Majadahonda. Madrid

³ Medicina Familiar y Comunitaria. Centro de Salud Fronteras. Torrejón de Ardoz. Madrid

⁴ Servicio de Cardiología. Clínica Santa Elena. Madrid

RESUMEN

Se presenta el caso de un paciente varón de 38 años de edad con antecedente de estenosis pulmonar como hallazgo, asintomática y sin tratamiento, que se confirmó en la exploración física. Se muestran Rx Tórax, TAC torácica y ecodoppler cardiológico.

Se analizan las características radiológicas de la estenosis pulmonar y la habitual asociación de ésta con crecimiento de las ramas principales de la arteria pulmonar.

Se establece diagnóstico diferencial entre las diversas entidades responsables de agrandamiento hilar izquierdo.

Palabras clave:

Masa hilar izquierda, agrandamiento hilar izquierdo, estenosis valvular pulmonar congénita, dilatación arterial pulmonar.

ABSTRACT

A case of 38 years old man with pulmonary stenosis finding,without treatment and no symptomatology we present.Chest Radiographs, Thoracic TAC and echocardiography has shown.

The radiologic features to the pulmonary stenosis and the association with enlargement of the main branches pulmonary artery were analysed.

We reviewed the different entities responsible of enlargement left hilar.

Key words:

Left hilar mass, enlargement left hilar,pulmonary congenital valvular stenosis.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 259-262

RESUMEN DE HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIONES

Paciente varón de 38 años de edad, apenas fumador y bebedor moderado, atendido en estudio preoperatorio para cobertura por necrosis cutánea de falange distal del 3º dedo de mano izquierda tras aplastamiento de la misma. Refiere

Correspondencia:

P. García Méndez
Servicio de Diagnóstico por Imagen. Centro de Rehabilitación FREMAP
Ctra. Majadahonda a Pozuelo de Alarcón 61.
28220 Majadahonda. Madrid

antecedentes de estenosis válvular pulmonar como hallazgo 10 años antes, en el curso de neumonía adquirida en la comunidad, asintomática, sin tratamiento ni seguimiento; anamnesis por aparatos sin interés.

De la exploración física tan solo fueron valorables leve obesidad con 90 Kg de peso y 185 cm de talla (IMC 26.3) y soplo sistólico III/VI en foco pulmonar no irradiado.

Analítica y ECG sin anomalías.

En la Rx de tórax (Figura 1, A y B) se aprecia gran aumento de tamaño del hilus pulmonar izquierdo, probablemente vascular.

Bartolomé Villar A., García Méndez P., Moral Pascual J. M., et al

Masa hiliar izquierda en paciente con estenosis valvular pulmonar

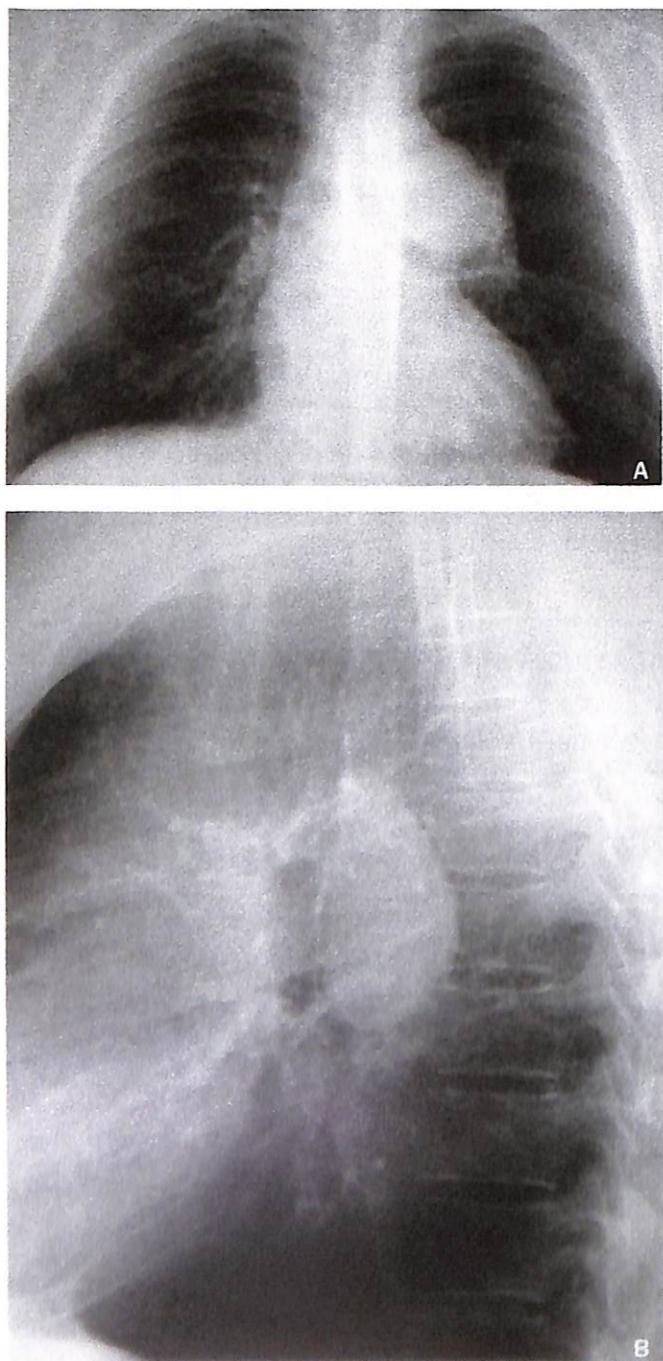


Fig. 1. A) Rx torax PA. B) Rx tórax lateral: gran aumento de tamaño de hilio pulmonar izquierdo.

En la TAC torácica (Figura 2, A y B) se observa dilatación del tronco de la arteria pulmonar (4.8 cm.), de la arteria pulmonar izquierda (3 cm.) y de la rama lobar inferior izquierda con opacificación homogénea del árbol vascular, tras administración del contraste endovenoso.

Fig. 2. A) TAC axial con contraste IV: dilatación del tronco de la A. pulmonar (4,8 cm.) y de la arteria pulmonar izquierda (3 cm.). B) TAC axial con contraste IV: dilatación de la arteria lobar inferior izquierda.

El ecodoppler cardiológico (Figura 3) objetiva estenosis valvular pulmonar de grado ligero a moderado con gradiente de pico de 31 mm. Hg y dilatación de la rama pulmonar izquierda, del mismo calibre que el tronco de la arteria pulmonar.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La presencia de un hilio grande obedece, generalmente, a crecimiento de la arteria pulmonar, a la presencia de masas de origen bronquial o a incremento de los ganglios de la región hiliar, pudiéndose esquematizar como causas de crecimiento hiliar unilateral las siguientes entidades: A) inflamatorias: fundamentalmente primoinfeción tuberculosa, tosferina, tularemia, micoplas-

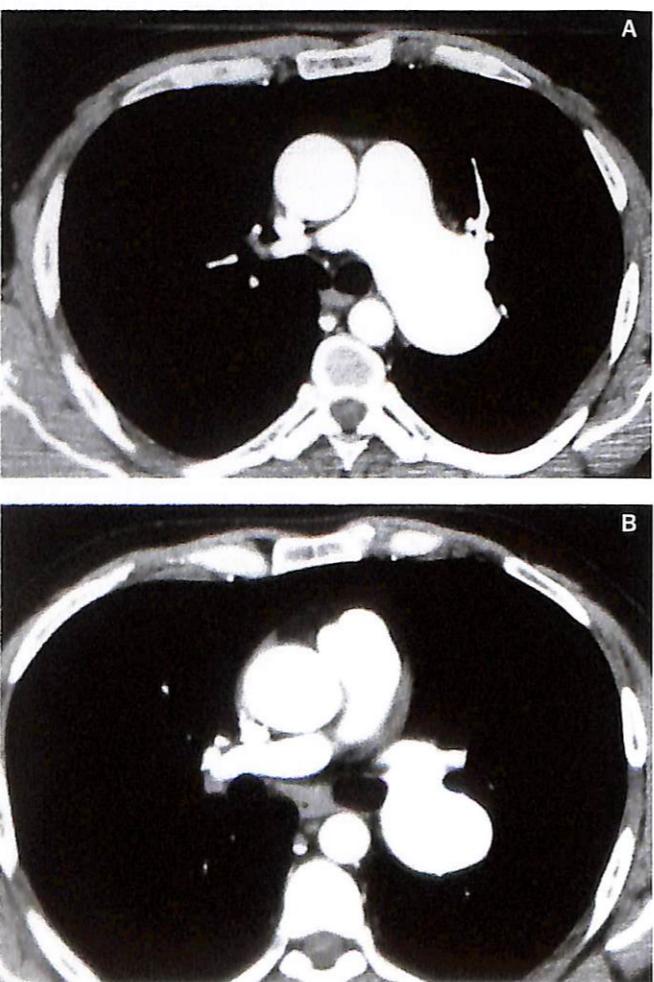


Fig. 2. A) TAC axial con contraste IV: dilatación del tronco de la A. pulmonar (4,8 cm.) y de la arteria pulmonar izquierda (3 cm.). B) TAC axial con contraste IV: dilatación de la arteria lobar inferior izquierda.

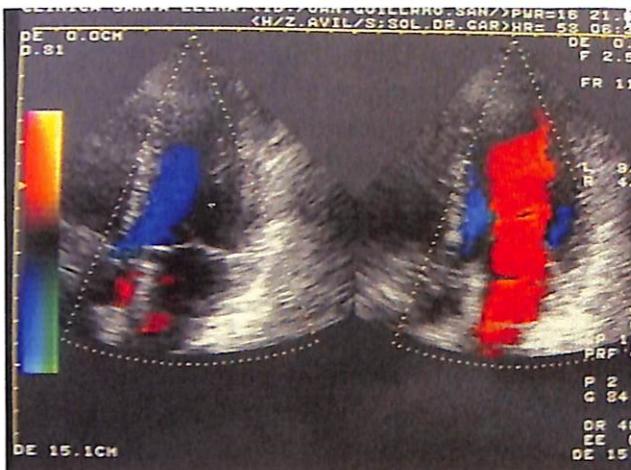


Fig. 3. Ecodoppler cardiológico: estenosis valvular pulmonar de grado ligero a moderado con gradiente de 31 mm. de Hg junto a dilatación de la arteria pulmonar izquierda.

ma, psitacosis, mucoviscidosis, sarcoidosis e hiperplasia linfática (Enfermedad de Castleman), B) micosis (histoplasmosis), C) neoplasias: carcinoma broncogénico, linfoma Hodgkin, carcinoma broncoalveolar, adenoma bronquial, metástasis, D) vasculares: dilatación del tronco de la arteria pulmonar izquierda, fistula arterio-venosa pulmonar, coartación de arteria pulmonar y tromboembolismo pulmonar y E) espúreas como masas mediastínicas o neumonía (1-3).

El hilio grande es la manifestación característica del complejo primario en la tuberculosis de la infancia; frecuentemente coexisten adenopatías mediastínicas y los hallazgos radiológicos incluyen la lesión parenquimatosa, una serie de líneas finas que desde la lesión progresan hacia el hilio y que son trayectos de linfangitis, crecimiento hiliar por los ganglios infartados; puede coexistir derrame pleural. Ocasionalmente, la lesión parenquimatosa no es visible y solo se aprecian las adenopatías hiliares, constituyendo la forma ganglionar tuberculosa (4).

La sarcoidosis presenta adenopatías unilaterales en menos del 5% de los casos y en general, hay lesiones pulmonares acompañantes que sugieren el diagnóstico.

La hiperplasia linfática inespecífica o enfermedad de Castleman produce adenopatía hiliar unilateral, habitualmente.

El carcinoma broncogénico se origina en el 40% de los casos en los bronquios principales y por

Bartolomé Villar A., García Méndez P., Moral Pascual J. M., et al

Masa hiliar izquierda en paciente con estenosis valvular pulmonar

tanto, es frecuente que aparezca como crecimiento hiliar unilateral como primera manifestación radiográfica, no siendo raro que los bordes del hilio aparezcan borrosos e irregulares, con tramos finos que se irradian hacia el parénquima pulmonar vecino. En ocasiones, un tumor periférico se acompaña de crecimiento hiliar por la afectación de los ganglios regionales que drenan la zona tumoral. Las metástasis de un carcinoma extratorácico son raramente unilaterales. En los linfomas puede verse afectación adenopática uni o bilateral, siendo la forma primaria de linfoma la que puede presentar un cuadro radiológico de crecimiento hiliar unilateral, muy similar al del carcinoma.

Las lesiones vasculares que provocan crecimiento hiliar incluyen la estenosis valvular pulmonar congénita que se acompaña de dilatación del tronco de la arteria pulmonar, y por lo tanto puede hacer crecer el hilio izquierdo. También es frecuente la dilatación idiopática de la arteria pulmonar, siendo bastante común ver un tronco prominente, en hembras adolescentes. La coartación de la arteria pulmonar que se acompaña de dilatación poststenótica, también puede causar crecimiento hiliar unilateral. El embolismo pulmonar puede presentarse como una masa hiliar unilateral cuando existe un gran émbolo en una arteria principal y generalmente se acompaña de disminución de calibre o desaparición de las arterias periféricas, siendo el defecto de replección en las ramas afectadas en TAC el diagnóstico definitivo.

Aneurismas aórticos, masas mediastínicas anteriores como timomas, quistes broncogénicos, etc., pueden presentar imágenes que impresionan como crecimiento hiliar, igual que sucede con la ausencia congénita de pericardio, en que la herniación de la orejuela izquierda puede sugerir crecimiento hiliar unilateral.

De las neumonias es frecuente la aparición de adenopatías bilaterales, en la tularemia y en la tosferina, habiéndose demostrado también en la neumonía por micoplasmas y en los abscesos bacterianos pulmonares (5).

Los estudios radiológicos deben investigar si el crecimiento hiliar unilateral es de origen vascular o adenopático; en este sentido, la TAC es de gran utilidad (6).

El diagnóstico diferencial del crecimiento del cono pulmonar, incluya las lesiones que por estar

situadas a nivel de hilio izquierdo pueden confundirse, como masas o adenopatías hiliares, tumores mediastínicos, especialmente teratomas y timomas, defecto pericárdico parcial con herniación de la orejuela, así como la aorta ascendente en transposición corregida (3,6).

COMENTARIO

Solo cuando la estenosis valvular pulmonar es muy significativa, se produce cardiomegalia por aumento del tamaño del ventrículo derecho, siendo habitual la dilatación postestenótica de la arteria pulmonar (7-9).

El crecimiento de los vasos pulmonares suele responder a cambios de volumen (aumento del flujo o flujo turbulento), o de presión en la circulación pulmonar (aumento de la presión intraluminal) o asociación de ambos mecanismos (9,10).

En la proyección PA, el crecimiento del tronco de la arteria pulmonar produce una rectificación o un

aumento de la convexidad del borde izquierdo entre la aorta y la aurícula izquierda; el arco aórtico es menos prominente, por rotación del corazón (11). En niños, el contorno es frecuentemente convexo, pero esta convexidad va desapareciendo al paso de los años. En la proyección lateral, el tronco de la arteria pulmonar suele verse formando el borde posterior del aire retrosternal; la rama derecha se ve de frente como una sombra redondeada u oval por delante de la bifurcación traqueal, mientras que la izquierda se identifica como una especie de «coma» grande al pasar sobre el arco del bronquio principal izquierdo, por delante y debajo de la parte posterior del arco aórtico (10).

En la estenosis pulmonar, el tronco de la arteria pulmonar puede estar dilatado por turbulencias postestenóticas, puede ser normal o incluso estar disminuido de tamaño, siendo necesario descartar la existencia de enfermedad cardiaca con los diferentes métodos de imagen en aquellos casos que tengan aumento de hilio pulmonar (12).

Referencias bibliográficas

1. Felson B: Chest Roentgenology. W. B. Saunders. Filadelfia 1973.
2. Reeder M, N y Felson B.: Gamuts in Radiology. Audiovisual Radiology. Cincinnati. 1975.
3. Fraser RG: Roentgenologic CPC. Weight loss, fatigue and mediastinal and hilar adenopathy in a 67 years-old man. Investigative Radiology. 1980; 15: 174-77.
4. Amorosa JK, Smith PR, Cohen JR, Ramsey C. y Lyons HA: Tuberculosis mediastinal lymphadenitis in the adult. Radiology. 1978; 126: 365-66.
5. Rohlfing BM, White EA, Webb WR y Goodman P. C.: Hiliar and mediastinal adenopathy caused by bacterial abscess of the lung. Radiology. 1978; 128: 289-94.
6. Armstrong P.: Tomographic evaluation of the questionably enlarged pulmonary hilium. En Armstrong P. Critical Problems in Diagnostic Radiology. J. B. Lippincott. Filadelfia. 1983.
7. Pedrosa CS, Crespo A.: Semiología general de las cardiopatías. Insuficiencia cardiaca. Distres respiratorio del adulto. En Diagnóstico por imagen de Pedrosa. 2^a Edic. Mc GRAW-HILL. INTERAMERICANA. 2000; vol I: 711-46.
8. Tami LF, McElderry MW.: Pulmonary artery aneurysm due to severe congenital pulmonary stenosis. Case report and literature review. Angiology. 1994 May;45(5):383-90.
9. Weyman AE: Principles and practice of echocardiography. 2^a Edic. Lea & Febiger; 1994.
10. Higgins CB: Radiography of Acquired Heart Disease. En Essentials of cardiac radiology and imaging. Lippincott Co. Filadelfia 1992.
11. Eisenberg RL: Clinical Imaging: an atlas of differential diagnosis. Heinemann Medical Books. Londres 1988.
12. Eva Castañer, MD, Xavier Gallardo, MD, Jordi Rimola, MD, Yolanda Pallardó, MD, Josep M. Mata, MD PhD, Joan Perendreu, MD, Cesar Martín, MD and Damian Gil, MD. Congenital and acquired pulmonary artery anomalies in the adult: Radiologic overview. Radiographics 2006; 26: 349-71.

Comorbilidad y visitas a urgencias explican los ingresos hospitalarios de los pacientes incluidos en programas de atención domiciliaria

Comorbidity and emergency visits explain home care patients hospital admissions

Gené Badia J.^{1, 2, 3}, Hidalgo García A.⁴, Contel Segura J. C.², Borràs Santos A.^{1, 5}, Ascaso Terren C.³, Piñeiro González M.³, Ortiz Molina J.⁶, Martín Royo J.¹, Gonzalez Martínez S.⁶, Camprubí Casellas M^a D.², Cegri Lombardo F.², Limón Ramírez E.², Aranzana Martínez A.², Heras Tebar A.², Noguera Rodríguez R.⁷, Oliver Olius A.⁸, Rivas Zuazo S.⁸, Porta Borges M.⁸, Adell Aguiló N.², Borrell Muñoz M.⁹ y Equipo Investigadores HC>65¹⁰.

¹ CAPSE Consorci d'Atenció Primària de Salut de l'Eixample. Barcelona.

² I.C.S. Institut Català de la Salut. Barcelona.

³ Universitat de Barcelona. Barcelona.

⁴ IDIAP Jordi Gol. Barcelona.

⁵ Fundació Jordi Gol i Gurina. Barcelona.

⁶ CAP Les Corts Gesclínic. Barcelona.

⁷ C.S.I. Consorci de Salut Integral. Barcelona.

⁸ CAP Larrard PAM. Barcelona.

⁹ CAP Sarrià. Barcelona.

¹⁰ Anexo 1.

RESUMEN

Objetivo: Identificar las variables sociales y de salud de los pacientes mayores de 65 años que se incluyen en un programa de atención domiciliaria (PAD) de los equipos de atención primaria (EAP) catalanes y de los servicios sanitarios y sociales que reciben, asociadas al ingreso hospitalario, con el fin de poder introducir acciones de mejora en el servicio.

Diseño: Estudio analítico transversal.

Emplazamiento: 71 equipos de atención primaria catalanes.

Participantes: Pacientes mayores de 65 años con patologías crónicas incluidos en PAD de los EAP.

Mediciones principales: De cada paciente se recoge su estado de salud: test de Charlson (comorbilidad), Barthel (nivel de dependencia en actividades de la vida diaria), Pfeiffer (nivel deterioro cognitivo), Braden (riesgo desarrollo

ABSTRACT

Objective: Evaluate the home care carried out by primary health care teams in our context to people over 65 years with chronic conditions, in order to identify which social and health variables are related to patient hospital admissions, to identify improvement opportunities. .

Design: Cross sectional study.

Setting : 71 Primary Health Care Teams in Catalonia.

Patients: Patients over 65 with chronic pathologies cared by home care programmes in Catalonia.

Measurements: Health status variables: Charlson, Barthel, Pfeiffer, Braden and Gijon, data from his carer (Zarit), self perception of health (SF-12), health professional visits, as well as: emergency visits, temporary admissions, and final results such as death or definitive admission in a nursing home or a hospital.

úlceras por presión) y Gijón (riesgo social), datos sobre el cuidador (Tests de Zarit), atenciones recibidas (social y sanitaria), su salud subjetiva (SF-12), ingresos en hospital, visitas a Urgencias e ingresos temporales en centros sociosanitarios y/o residencias.

Resultados: Se incluyen 1068 pacientes de 83,6 años de edad (DE: 6,5). Observamos que tienen más riesgo de hospitalización los de sexo masculino ($RR = 1.56$, IC95%: 1.22-1.99), los de elevada comorbilidad ($RR = 2.30$, IC95%: 1.76-2.99), los que presentan úlceras por presión ($RR = 2.22$, IC95%: 1.09-4.52), una mala autopercepción de su salud física ($RR = 0.98$, IC95%: 0.97-1.00) y los que han acudido a urgencias con anterioridad ($RR = 1.66$, IC95%: 1.28-2.16).

Conclusión: Los actuales PAD de los EAP atienden las necesidades asistenciales de los pacientes ancianos que no pueden desplazarse, pero no previene las hospitalizaciones. Posiblemente, para que su labor fuera preventiva de los ingresos hospitalarios deberían incluir también a los ancianos más jóvenes y con mayor nivel de autonomía.

Palabras clave:

Atención domiciliaria, úlceras por presión, servicios sociales, hospitalización y comorbilidad.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 263-273

Results: We included 1068 patients, mean age 83,6 (SD 6,5). We observed that variables related to a high risk of being admitted to the hospital are: male ($RR = 1.56$, CI 95%: 1.22-1.99), high comorbidity index ($RR = 2.30$, CI95%: 1.76-2.99), presence of pressure ulcers ($RR = 2.22$, CI 95%: 1.09-4.52), and self perception of a bad health ($RR = 0.98$, CI95%: 0.97-1.00) and previous visits to emergency hospital units ($RR = 1.66$, CI 95%: 1.28-2.16).

Conclusions: Studied primary health care teams provide home care to elderly patients with mobility problems but they don't prevent hospital admissions. Probably, to have a positive effect on reducing hospital admission they should focus on the youngest elderly patients with a higher level of autonomy.

Key words:

Home care. Pressure ulcers. Social services. Hospital admission. Comorbidity.

INTRODUCCIÓN

El progresivo aumento de la esperanza de vida se acompaña de un incremento del consumo de recursos sanitarios asociado a la alta prevalencia de patologías crónicas. Esta situación ha creado la necesidad de optimizar el uso de camas de hospitales de agudos. Con este objetivo se están promoviendo innovaciones organizativas como las enfermeras de enlace (1), enfermeras gestoras de casos o los programas de atención domiciliaria (PAD) que aumentan la continuidad asistencial y que a demás de mejorar la calidad de la atención clínica pretenden reducir las estancias hospitalarias. Todos los equipos de atención primaria (EAP) de nuestro país ofrecen PAD, a pesar de que carecemos de evaluaciones objetivas sobre los resultados de estas intervenciones sobre los pacientes y el sistema sanitario. La bibliografía cuestiona la efectividad de estos programas para reducir los ingresos hospitalarios (2). Una revisión sistemática afirma que únicamente

lo consigue cuando se dirige a las poblaciones ancianas más jóvenes, se realiza una valoración multidimensional y se prestan más de 9 visitas preventivas anuales (3).

Hemos realizado este estudio para evaluar la actividad de los PAD que realizan los EAP de nuestro país, con el fin de poder iniciar acciones de mejora en su organización que maximicen el impacto de sus intervenciones. Deseamos identificar las variables sociales y de salud de los pacientes mayores de 65 años que ingresan en un PAD de EAP catalanes y de los servicios sanitarios y sociales que reciben, asociadas al ingreso hospitalario.

MÉTODO

Diseño

Estudio analítico transversal que forma parte de un estudio más amplio de seguimiento de una cohorte cuyo método ya ha sido publicado (4).

Emplazamiento

71 Equipos de Atención Primaria de Cataluña del ámbito urbano y rural.

Criterios de inclusión de los pacientes

Pacientes mayores de 65 años, no intubados, con alguna patología crónica, que ingresan en un PAD de su EAP en el período de 1 junio a 31 de diciembre de 2005 o que en este período de reclutamiento hiciera menos de 12 meses que estuvieran en programa.

Criterios de exclusión

Se excluyeron del estudio los pacientes que rechazaron participar, los que sólo estaban temporalmente, menos de 9 meses, a cargo del EAP; los pacientes terminales con una esperanza de vida prevista inferior a tres meses; los post-quirúrgicos que precisaban atención transitoria y los que presentaran un importante deterioro cognitivo ellos mismos o su cuidador que impedia la regogida de información.

Método de selección de los sujetos

Cada uno de los 378 profesionales sanitarios que participaron en el trabajo de campo debían aportar un mínimo de 3 pacientes, incorporados durante el período de reclutamiento o seleccionado aleatoriamente entre los que llevaban menos de un año en el PAD.

Recogida de información

De cada paciente se registraron sus características clínicas, su nivel de comorbilidad (test de Charlson), su estado funcional (test de Barthel), estado cognitivo (test de Pfeiffer), la existencia de úlceras por presión y el riesgo de que aparezcan (Test de Braden), su estado de salud subjetiva (test SF-12), su valoración social (test de Gijón), la utilización de servicios sociales y sanitarios que recibía tanto de tipo formal como informal, considerando la sobrecarga del cuidador (Test de Zarit), así como la presencia o no de ingresos hospitalarios durante su permanencia en el programa.

Cada investigador registró estos datos en unas fichas que se procesaron de forma centralizada. Se llevó a cabo un control activo de la calidad de la información recibida para minimizar los errores y las pérdidas de información. Se vigiló que no se entregaran valores en blanco o fuera de rango.

Control de calidad

Se realizó un control de la calidad de la información recogida auditando una muestra aleatoria del 10 % de los pacientes del estudio. La concordancia entre las fichas y los datos registrados en la historia clínica se valoró con el índice Kappa para las variables cuantitativas y con el índice de Correlación interclase (ICC) para las variables cuantitativas.

Algunas variables cuantitativas que no cumplían los criterios para utilizar el ICC se han agrupado en categorías (5).

Análisis estadísticos

Las variables cuantitativas se han descrito calculando la media y la desviación típica. Las variables cualitativas se describen calculando la frecuencia absoluta y relativa de sus categorías. La estadística bivariante se ha hecho usando las pruebas de Chi-Cuadrado, pruebas t-Student y Regresiones de Poisson.

Para realizar el análisis multivariante final hemos utilizado una generalización del modelo de Poisson que permite calcular riesgos relativos. En este caso, como el tiempo de seguimiento de los distintos ancianos estudiados no era constante y podía ir de 1 día hasta 1 año y medio, ha sido necesario incluir esta variable en el modelo. El modelo final permite estimar el efecto de las diferentes variables que explican los ingresos hospitalarios teniendo en cuenta el tiempo de seguimiento. Los análisis se han hecho con los paquetes S-Plus vs 6.2 y SPSS vs 12.0. Los contrastes de hipótesis se han realizado con un nivel de significación del 5 %.

RESULTADOS

Se han recogido 1068 pacientes mayores de 65 años, incluidos en programas de Atención Domiciliaria en Cataluña. Las características clínicas de estos pacientes se muestran en la Tabla 1. La Tabla 2

Gené Badia J., Hidalgo García A.,
Contel Segura J. C., et al.

Riesgo de hospitalización en pacientes
de atención domiciliaria

recoge las características de los cuidadores de estos pacientes y en la Tabla 3 se presentan el consumo de servicios sociales y sanitarios que han realizado.

La auditoria de 137 pacientes muestra un grado de concordancia importante o casi per-

fecto excepto en el caso del número de visitas de la enfermera, del médico y de la trabajadora social, en los cuales la concordancia fue moderada, a pesar de que a veces la diferencia era mínima.

TABLA 1. Características clínicas de los pacientes incluidos en el programa

	Media	Desv. típ.	Frecuencia	%
Edad	83,6	6,5		
Mujeres			710	66,5
Días de permanencia en el PAD	160,8	147,4		
Comorbilidad:				
Comorbilidad = 0			173	16,2
Comorbilidad = 1			268	25,1
Comorbilidad de 2 o más			622	58,7
Nivel de Dependencia (Test de Barthel)				
Dependencia total			113	10,6
Dependencia severa			73	6,8
Dependencia Moderada			197	18,5
Dependencia Ligera			616	57,7
Autónomos			68	6,4
Estado cognitivo (Test de Pfeiffer)				
Normal			566	53,1
Deterioro Cognitivo Leve			194	18,2
Deterioro Cognitivo Moderado			164	15,4
Deterioro Cognitivo Importante			142	13,3
Riesgo de Ulceras (Test de BRADEN)				
Riesgo alto de UPP			49	4,6
Riesgo moderado			86	8,1
Riesgo bajo			266	25,2
Riesgo muy bajo			656	62,1
Riesgo Social (test de GIJÓN)				
Sin riesgo social			534	50,7
Riesgo Social			391	37,1
Problemática Social			128	12,2
Percepción subjetiva del componente Físico(PCS-12)	30,9	7,7		
Percepción subjetiva del componente Mental(MCS-12)	38,9	12,3		
Tienen úlceras?	No		924	86,5
Hábitos tóxicos				
Consumo de tabaco	No		1034	96,8
Consumo de alcohol	No		977	91,5

Gené Badia J., Hidalgo García A.,
Contel Segura J. C., et al.

Riesgo de hospitalización en pacientes
de atención domiciliaria

TABLA 2. Características de las personas que cuidan a los pacientes incluidos en PAD

	Media	Desv. típ.	Frecuencia	%
¿Tienen cuidador informal?			879	82,3
Sexo del Cuidador Informal	Mujer		673	63,0
Edad del cuidador informal	61,8		13,9	
Nivel de sobrecarga del cuidador (Test de ZARIT)				
No sobrecarga del cuidador			378	43,7
Sobrecarga Leve			186	21,5
Sobrecarga Intensa			301	34,8
Test de Zarit (Cuidador Informal)	50,7	16,5		
¿Tienen ayuda a domicilio?	Si		401	37,5
Horas/Semana de ayuda a domicilio	47,9		58,7	

Finalmente la Tabla 4 presenta los resultados del análisis multivariante que muestra las variables que de forma independiente se relacionan con el ingreso hospitalario en estos pacientes.

DISCUSIÓN

Identificamos que los factores que explican significativamente el riesgo de hospitalización en pacientes mayores de 65 años incluidos en PAD de EAP son: el sexo masculino, la presencia de úlceras por presión, el grado elevado de comorbilidad (una puntuación superior a 2 en el test de Charlson), haber visitado urgencias con anterioridad y considerar que se tiene una mala salud física.

Es interesante observar que los ingresos quedan básicamente explicados por patología orgánica de los pacientes tanto objetiva como subjetiva. No parece que influyan aspectos relacionados con condicionantes sociales (7) o con el propio agotamiento del cuidador, factores que a menudo consideran los profesionales. Seguramente el carácter equitativo de nuestro sistema sanitario justifica la observación. Tampoco se relaciona con los servicios sociales y sanitarios prestados. La única actividad sanitaria asociada al ingreso es curiosamente la experiencia de haber realizado una visita previa a urgencias. La avanzada edad de los pacientes incluidos en el programa puede explicar este hecho. Una revisión sistemática muestra que no existe evidencia de que los PAD

prevengan ingresos en estos pacientes tan ancianos (2). En los últimos estudios que intentan definir características de pacientes a riesgo de ingreso o complejos también identifican un patrón de utilización de servicios (8). Nuestros resultados presentan una alta coincidencia con las variables de salud que definen el perfil de paciente complejo o a riesgo de ingreso que señala el King's Fund en su informe: la comorbilidad, el patrón de utilización de servicios previo (hospitalizaciones), las visitas a urgencias, la presencia de úlceras por presión y la disponibilidad de cuidador informal «con capacidad de cuidar» (9).

Al tratarse de datos aportados voluntariamente por investigadores que deseaban participar en el estudio, no podemos asegurar que la muestra analizada sea representativa de los PAD prestada por los EAP de Cataluña. Sin embargo, el gran tamaño de la muestra y la elevada dispersión geográfica y de proveedores, junto a la calidad de los datos, nos ofrecen una buena aproximación a lo que sucede actualmente en los PAD de nuestro país. Aunque la calidad asistencial observada pueda ser ligeramente superior a la real por tratarse de profesionales especialmente sensibilizados por el tema, el carácter transversal del estudio no permite establecer una relación causal entre las variables observadas y los ingresos. Unicamente el futuro seguimiento de esta cohorte de pacientes permitirá llegar a este tipo de conclusiones. También debemos señalar que las variables de la actividad clínica solo recogen el númer-

TABLA 3. Utilización de servicios sociales y sanitarios de los pacientes incluidos en PAD durante el período de estudio

	Media	Desv. típ.	Frecuencia	%
Utilización de servicios sanitarios por paciente desde que entraron en el programa ATDOM :				
Número de días en residencias geriátricas o centros socio sanitarios	1,5	9,7		
Número de Ingresos hospitalarios	0,3	0,8		
Número de Visitas a urgencias	0,5	1,1		
Intensidad de visitas a domicilio por paciente de los servicios sanitarios desde que entraron en el programa ATDOM				
<i>Número de visitas de:</i>				
Trabajadora social	0,2	0,6		
Médico responsable	2,3	2,8		
Otro médico del centro	0,4	1,1		
Enfermera responsable	5,4	8,0		
Otra enfermera del centro	0,8	2,7		
Médicos(en conjunto)	2,7	3,2		
Enfermeras(en conjunto)	6,2	9,4		
Realización de Visitas de otros servicios sanitarios desde que entraron en el PAD				
<i>Número de visitas del:</i>				
PADES	31	2,9		
061	146	13,7		
Servicios sanitarios privados	76	7,1		
Servicios de hospitalización a domicilio	4	0,4		
Atención continuada	121	11,3		
Hospital de Día	22	2,1		
Rehabilitación a Domicilio	103	9,6		
Servicios de atención personal de carácter social desde que entraron en el programa ATDOM:				
Servicio de ayuda a domicilio	401	37,5		
Tele asistencia	88	8,2		
Comidas a domicilio	10	0,9		
Voluntarios	14	1,3		
Centro de día	15	1,4		

ro de visitas, y no las intervenciones específicas que se realizan en cada una de ellas. Desconocemos si una descripción más detallada de esta actuación profesional hubiera podido reconocer actividades relacionadas con los ingresos.

Todos los estudios señalan que las mujeres son más consumidoras de servicios de atención primaria, mientras que los hombres lo son de atención hospitalaria. Se interpreta como que las mujeres son más partidarias de las actividades

TABLA 4. Tabla 4: Variables asociadas con el ingreso hospitalario de los pacientes incluidos en PAD de los EAP según el análisis multivariante (Modelo Poisson). Valorado por ingresos/día

	Categorías	RR	Intervalo de Confianza (95%)		P-value
			RR	Inferior	
Sexo	Hombre	1,5581		1,2193	1,991
	Mujer	1			0,0004
Ulceras	Grado 3 o 4	2,2233		1,0947	4,5156
	Otros	1			0,0491
Comorbilidad	0-1	1			<0,0001
	≥ 2	2,2971		1,7641	2,9911
061	Si	1,6632		1,2834	2,1554
	No	1			0,0002
Salud Física SF-12		0,983		0,9664	0,9999
					0,0462

preventivas, mientras que los hombres, menos propensos al autocuidado, únicamente acuden a los servicios sanitarios cuando se encuentran realmente mal. Lo hacen en urgencias y acaban ingresando (10). Curiosamente los datos muestran que la misma regla es válida para los pacientes incluidos en PAD, con independencia de su nivel de patología. Existen más mujeres en programa, pero son los hombres quienes más ingresan en los hospitales. Desconocemos si esta observación es debida a las inequidades del sistema sanitario ante el género (11) o a las diferencias en el tipo de patologías que presentan.

Parece lógico que la comorbilidad sea el factor más asociado al ingreso hospitalario en un centro de agudos. Otros autores comentan que efectivamente este es el principal motivo de ingreso en pacientes ancianos (7,8,12). Conocemos que un seguimiento más estrecho de pacientes crónicos ambulatorios con patologías como EPOC o diabetes reduce las hospitalizaciones (13), será interesante analizar en un futuro si lo mismo es cierto en pacientes atendidos en PAD.

Como otros autores (14) encontramos que las úlceras por presión se relacionan en nuestro entorno con ingresos. Sería cándido pensar que un mayor cuidado en la prevención y tratamiento de las úlceras reduciría los ingresos hospitalarios, ya que raramente las úlceras por decúbito justifican un ingreso. En este caso, consideramos que las úlceras no son más que una expre-

sión de la severidad de la patología y del deterioro funcional del paciente.

Otra forma de explicar que la morbilidad se relaciona con el ingreso es observar que este se vincula a la percepción de una deficiente salud física. Otros autores corroboran esta asociación (15). Seguramente esta percepción de pérdida de salud motiva la demanda de este tipo de servicios. Justamente la demanda explica también, o puede explicar, que ingresen más los que lo han intentado con anterioridad. Otros autores (12) también hallan que una hospitalización previa, íntimamente ligada a las visitas a urgencias, era un factor explicativo de los ingresos. Esta observación seguramente justifica que los programas de gestión de casos (Community Matrons o gestoras de casos en el Reino Unido) (16) prioricen la inclusión de pacientes con hospitalizaciones previas o repetidas visitas a urgencias.

Otros autores hallan que el estado funcional (15) del paciente o la dependencia para las actividades de la vida diaria (17) están relacionados con la hospitalización. Seguramente el limitado número de camas de larga estancia que existe en nuestro país explica que factores ajenos a la patología se asocien a los ingresos.

El estudio muestra que los pacientes incluidos en los PAD de los EAP ingresan básicamente en hospitales de agudos. Esta situación se asocia a las características del paciente (sexo masculino, comorbilidad, úlceras por decúbito, y salud física

Gené Badia J., Hidalgo García A., Contel Segura J. C., et al.

Riesgo de hospitalización en pacientes de atención domiciliaria

subjetiva) y al patrón de utilización de servicios hospitalarios previos (especialmente a visitas anteriores a urgencias). Las variables estudiadas no han permitido identificar factores ligados a las características sociales del paciente o de los servicios sanitarios y sociales que recibe que están asociadas al ingreso. Los datos hacen suponer que los actuales programas PAD de los EAP prestan una atención relacionada con la patología de

los pacientes pero no realizan una actividad que haya demostrado ser preventiva de los ingresos hospitalarios. Posiblemente, para evitar hospitalizaciones estos programas no deberían limitarse a incluir los pacientes que no pueden desplazarse. Para ser preventivos, la bibliografía nos indica que deberían incluir pacientes sobre los que se pudiera intervenir, es decir personas más jóvenes y con un mayor grado de autonomía.

Referencias bibliográficas

- Naylor MD., Brooten D., Campbell R., Jacobsen B., Mezey M., Pauly M. et al. Comprehensive Discharge Planning and Home Follow-up of Hospitalised Elders: a randomized clinical trial. *JAMA* 1999; 281: 613-20.
- Elkan R. Et al. Effectiveness of home based support for older people: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2001; 323: 1-9.
- Stuck A., Egger M., Hammer A., Minder C., Beck J. Home Visits to prevent nursing home admission and functional decline in elderly people: systematic review and meta-regression analysis. *JAMA* 2002; 287: 1022-28.
- Gené J., Hidalgo A., Contel JC., Borràs A., Ortiz J., Martín J. Seguimiento de una cohorte de Atención Domiciliaria. *Aten Primaria*. 2006;38:47-50.
- Deyo RA, Diehr P, Patrick DL. Reproducibility and responsiveness of health status measures. Statistics and strategies for evaluation. *Clin Trials* 1991; 12 (4 Suppl): 142-58.
- http://www.ats.ucla.edu/STAT/SAS/faq/relative_risk.htm. accesible el 30/01/2007.
- Landi F, Onder G, Cesari M, Barillaro C, Lattanzio F, Carbonin P, Bernabei R. Et al. Comorbidity and social factors predicted hospitalization in frail elderly patients. *J Clin Epidemiol*, 2004; 57:832-36.
- Sylvia M., Shadmi E., Hsiao Ch., Boyd C., Schuster A., Boult Ch. Clinical Features of High-Risk Older Persons identified by predictive modeling. *Dis Manag*. 2006;56-62.
- King's Fund. Combined Predictive Model: Final Report. London: King's Fund, 2006.
- Redondo-Sendino A., Guallar-Castillón P., Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F. Gender differences in the utilization of health-care services among the older adult population of Spain. *BMC Public Health* 2006; 6:155.
- Borrell C.; Garcia-Calvente M.; Martí-Bosca J.V. Public health from the perspective of gender and social class. *Gac Sanit*. May 2004, vol.18 suppl.1, p.02-06.
- Marcantonio ER, McKean S, Goldfinger M, Kleefield S, Yukofsky M, Brennan TA. Factors associated with unplanned hospital readmission among patients 65 years of age and older in a Medicare managed care plan. *Am J Med* 1999; 107: 13-7.
- Casas A., Troosters T., Garcia-Aymerich J., Roca J., Hernández C., Alonso A., del Pozo F., De Toledo P., Antó J.M., Rodríguez-Roisin R., Decramer M. members of the CHRONIC Project; Integrated care prevents hospitalisations for exacerbations in COPD patients, *Eur. Respir. J.*, Jul 2006; 28:123-30.
- Fried TR, Mor V. Frailty and hospitalization of long-term stay nursing home residents. *J Am Geriatr Soc*. 1997 Mar;45(3):265-9.
- Mor V., Wilcox V., Rakowski W., Hiris J. Functional Transition among the Elderly : Patterns, Predictors, and Related Hospital use. *Am J Public Health*. 1994 August. Vol. 84, No8.
- Gravelle H, Dusheiko M, Sheaff R, Sargent P, Boaden R, Pickard S, Parker S, Roland M. Impact of case management (Evercare) on frail elderly patients: controlled before and after analysis of quantitative outcome data. *BMJ*.2007 Jan 6; 334(7583):31.
- Cynthia M. Boyd, Qian-Li Xue, Crystal F. Simpson, Jack M. Guralnik, Linda P. Fried. Frailty, hospitalization, and progression of disability in a cohort of disabled older women. *Am J Med*. 2005; 118, 1225-31.

Gené Badia J., Hidalgo García A., Contel Segura J. C., et al.

Riesgo de hospitalización en pacientes de atención domiciliaria

Jesús Cañizares Rivero, Blanca De Miguel Ibáñez, Fco Javier Gómez Ruiz, Elena Sáenz González.

EAP Gavà 2: Lucila Gonzalo Miguel, Pilar Núñez Manrique, Gemma Martínez Saiz, Rita Fernández Vergel, Maite Peñarrubia Maña, Carmen Carretero Sánchez.

EAP Vinyets: Leonor Cadena Andreu, Rosario Domínguez Mendoza, Sonia Cabrera Robledo, David Gosálbez García, África Soler i Castillo, Francesc Fernández Sesma, Esther Quesada Suárez.

ABS Sitges: Herminia Palacín Piquero, Carme Pont García, Primitivo Sabaté López, Antonia Paños Marsal, Mª Carmen Soler Jacas, Mª Elena Betancor Fernández, Sofía Álvarez López, Irene Esteban Antón.

EAP Vallirana: Núria Casamada, Rosa María Llauradó, Juan Mata, Jaime Colominas, Adela Gómez, Glòria Bargalló, Eva Vegara Mora, Imma Arrabal González.

EAP Pujol i Capçada: Oscar Mazeres Ferrer, Francisco González Carrión, Begoña González Carrión, Maribel Matilla Font, Meritxell Pi Juan, Joan Gallego Cuxart, Encarni Diaz Castro.

ABS Viladecans: Asunción Nosas Canovas, J.Luis García Ferrer.

ABS Camps Blancs: Socorro González Perea, Inés Vázquez González, Teresa Arnau Pujolras, Roser Giner Nogueras.

CAP Montclar: Emilia Vaquera Morillo, Pilar Fernández Lorenzo, Joan Torras Gelabert.

EAP Bon Pastor: Amparo Alario Mifsud, M del Camino García Gutiérrez, Margarita Lasheras, Eva Ares Fernandez, Francisco López, Rosa Fernández Yáñez.

CAP Vall d'Hebron: Cristina Vivas Brau, Concepción Giner Soria.

CAP Horta: Gloria Sánchez Sánchez, Rosa Ma Fernández Salafranca.

ABS Guineueta: M Isabel Pacheco Ortiz, Pilar Escudero Recio.

EAP Pg. Sant Joan: Anna Cantó, Maria Clotet Rebullida, Leocicia Sillero, Marina Esteve, Fany Rodrigo, Lourdes Lasaosa.

Anexo 1

LISTA INVESTIGADORES

CAP Sagrada Família (CSI): Ramón Noguera Rodríguez, Natalia Riera, Sandra Villares Polis, Silvia Dueñas Martín.

CAPSE: Joan Gené, Alícia Borràs i Jaume Martin, Santiago Pérez de Haro, Elisenda Sant Arderiu, Mª Angels Moreno Ubiedo, Silvia Porcar León, Ana Pereira Rosalen, Marta Navarro González, Núria Gimferrer Artigas, Núria Sánchez Ruano, Noemí García Planas, Isabel Carretero Huertas, Rosa Segarra López, Gemma Amat, Blanca Valero Navarro, Mercé Mateu Hosta, Joan Clos Soldevila, Isabel Boix Soriano, Amparo Hervas Docon, Josep Maria Vilaseca.

CAP Les Corts: Jacinto Ortiz Molina, Susana Gonzalez Martinez, Josep Miquel Sotoca, Antoni Sisó Almirall, Ignacio Menacho Pascual, Gustavo Pacheco Navas, Mª José Giner Martos, Pilar Arrabal García, Eloisa Molés Moliner, Salvador Sitjar Martínez de Sas, Daniel Cararach Salami, Mª Luisa Moro Esteban, Berta De Andres Beuter, Mireia López Poyato, MªLluïssa Serrat Asensio, Susanna Bermúdez Chillida, Angels Montroig Rodríguez, Silvia Canivell Fusté, Ana Mª Perez del Molino Cucurny.

EAP Sarria: Manuel Borrell Muñoz, M Pilar Arevalillo García, Pilar Mayor Sánchez, Mercedes Pérez-Moreno Pallarés, María Canals Baldrich, Rosa Bosch Viñas, Blanca Albareda Ramírez, Anna Roca Fusalba, Jordi Arrufat Espinosa, Alan Persa Schmab.

ABS Tremp: Teresa Montanuy Baró, Lídia Escur Pujol, Conxita Nogues Santandreu, Gabriel Monferrer Monfort.

CAP Larrard PAM: Anna Oliver Olius, Montserrat Porta Borges, Sonia Rivas Zuazo, Carlos Alonso Arcos, Claudia Cardoner Bastardes, Irene Herrera Solsona, Carlos Martínez Gaitero, Silvia Roig del Valle, Antoni Santiveri Villuendas, Montserrat Saus Arus, Carolina Vega López, Cristina Zamora López, Roger Badia Casas, Gemma Pomares Marco, Marta Serrate Casado.

ABS Castelldefels: Montse González Santamaría, Mª Carmen Gallardo González, Imma Campamà Tutsaus, Fernando Diaz Julian, Jesusa Balasch.

EAP Gavà 1: Rosa Mª Aranzana Martínez, Elvira Altuna Elizondo, Beatriz Arizaga Ciordia, José Luis Caballé Godia,

Gené Badia J., Hidalgo García A., Contel Segura J. C., et al.

Riesgo de hospitalización en pacientes de atención domiciliaria

CAP Pare Claret: Francisco Cegri Lombardo, Antonio Aranzana Martínez, Núria Arteaga Pinadell, M. Dolors Oliver Schornstein, Mireia Marsà Carretero, Jaume Poch Enguidanos, Aurora Montoro Gómez, Carolina Boix Miralles, Gemma Badell Osuna, Marta Pallàs Ellacuria, Isabel García Villena, Yolanda Cesena Santiago, Imma Tapia Mayor, Pilar Martín González, Jaume Arnaus Pujol.

CAP Sanllehy: Enriqueta Borràs Gallart, M. Teresa Tierno Ortega.

CAP Sagrera: Raquel Urdiain Agorritz, Núria Rosell Reig.

EAP Poble Sec: M. Lluïsa Duch Dausa, Ana Jesús Barriocanal García, Angeles Duesca Jiménez, Roser Cano García, Teófila Laso Aponte, Conxita Vilaseca Reig.

EAP Via Roma: Teresa Isidro Barbero, Lydia Minguell Soriano, Carmen Ubriena Gomez, Lydia Riba Bellera, Silvia Camon Pañella.

EAP S. Antoni: Angels Arévalo, Anna Rosa Garcia Palies.

EAP Universitat: Mercè Guarch Rocarias, José Luis López Bueno.

ABS Encants: Leandra Domínguez Olivera, M^a Antonia Llauger Rosselló, M^a Antonia Pou Jiménez, Josefina Ferrús Alborch, M^a Teresa Font Canal, M^a Pilar Hernández Pérez, Dolors Gomez Priego, M^a Carme Quintela Salvans, Carmen Fuertes Villanueva, M^a Lluïsa Moral Martín.

ABS Camp de l'Arpa: M^a Asun Muñoz de Escalona Radial, Marina Cusi Ibáñez, Pilar Villarreal Moreno, Teresa Palatsi Cortes, Margarita Barrachina Beltrán, Pilar Monteagudo Caba, Agustina Bustamante Exposito, Eulàlia Duran Bellido, Esther Bracero Alonso, Montserrat Melé Baena, Eva Casajuana Andres.

EAP Congrés: Núria Balaguer i Cerdà, Marta Masagué Aguadé, Ana Ramon Busquets, M. Carme Sales Piñeiro, Esther Nisó Salla, Rosa Pausas Gual, Anna Jorba Ricart, Núria Roura Pujol, Elisabet Ferré Vidal, M. Belén Sánchez Rodríguez, Rosa Aznar Vilella, Carme Martí Delcor, M. Dolores Soria García, Marta Roset Bartrolí, Elvira García Arcos, Esmeralda López Larroy.

ABS Guinardó Baix: Rosa Mascort Matas, Pilar García Martínez, Raquel Millán Novella, Carme Vila Freixanet, Carmen Mezquita Pipió.

CAP Caldes de Montbui: Nuria Albí, Josep Nogués, M^a Julia Rodríguez Martínez, Josefa Navarro Heras, M^a Luz Talavera Pérez.

CAP La Llagosta: Ester Comas Clotet.

CAP Sant Celoni: Esther Limón Ramírez, Gemma Martí Chuscas, Montserrat Riera Galbana, Núria Bardolet López.

CAP PARETS: Fernando Cayuelas Onieva I, Jose María Santillana Garrido, Elodia Martín Morales, Manuel Vizuete Pérez, Anna Butjosa Navarro, Carmen Gómez Álvarez, Yolanda García González, Carmen Cerrillo Cabañero, Luís Carlos Aguilar Martínez.

CAP Canovelles: Dominga Santana Macias, Mercè Ribot Ballabriga.

CAP Sant Miquel: Jordi Barrero Ramos, Emilia Gallach Serrabasa, Anna Barceló Torras, Cesca Gil Torné, Gemma Casanovas Viladrich.

ABS Montornés-Montmeló: M^a José Figuera Martínez, Marisol Álvarez Abella.

ABS Vall del Tenes: Dolors Gascon Segundo, Aurora Pérez Cortes, Maite Muñoz Herrero.

CAP Antoni Creus: Neus Viladrich Segués, Antonia Casasayas Albert, Montserrat Palau Continente.

ABS Sabadell (Ca N'Oriac): Encarna Ortiz Álvarez, M^a Jose López Gomez, Francesca Vidal Boadella, Konrad Muñoz Jimeno, Núria Jarque Valls, Antonia Martínez García.

ABS Reus-1: Núria Adell Aguiló, Emilia Martí, Montserrat Huguet Jacob, Montserrat Munté, Montserrat Nolla, Isabel Cort, Llorenç Peralta.

ABS Reus-2: Júlia Sanz Tost, Rosa Feliu Jornet, Rosa González Pérez, Marisa Sole Gavalda, Ramona Roig Corbella, Joan Pardo Andujar, Gemma Castellvi Tudo, Francisca Parera Perol.

ABS Reus-3: Carme Anguera Perpiñà, Carme Ferrer, Dolors Garriga.

ABS Reus-4: Cristina Piñol, Rut Caro, Roser Pedret Llaberia, Aurora Reina.

Gené Badia J., Hidalgo García A., Contel Segura J. C., et al.

Riesgo de hospitalización en pacientes de atención domiciliaria

ABS Les Borges: M^a Josepa Ferrater, Josep M^a Duran.

ABS Montroig: Dolors Jovani Puig.

ABS Falset: M^a Lluïsa Pelleja Pellicer, Mònica Lluis Burgeño, Rosa Castro Palies, Maurici Sabater Margalef, Rosalia Bonfill Coll, Teresa Lara Pedrosa, Anna Lara Pedrosa, Amparo Diego Ferrer.

EAP-1 Sta. Coloma: Teresa Morató Cortinas, Ignacio López Pavón, Cristina López Mompó, Montserrat Guinart Aloy, Montse Tramuns Mas, Mercedes Fuentes Parrón, Assumpta Vidal Vilalta, Josep Ramon Gil Sarra, Pilar Pinillos San Celestino, Alexandre Vilanova Casagran, Teresa Sala Soler.

EAP-2 Sta. Coloma: Dolors Olmo Pagès, Remei Moreno Granada.

EAP-3 Sta. Coloma: Montse Díez Borregan, Olga Pascual Cortés.

EAP-4 Sta. Coloma: Antonio Heras Tebar, Amparo Gallart Iglesias, Verónica Moreno Gomez, Roser Garriga Becardi, Josefina Ruiz Tejero, Carme García Montañés, Adoración Fuertes Laborda.

EAP-5 Sta. Coloma: Judith Company Fontané, M^a Carme Guillen Molina, Rosa Herrero Talavera, Angels Cisneros Antó.

EAP-6 Sta. Coloma: Jordi Milozzi, Lola Guerrero Hernández, Lucía Pineda Herrando, Alicia López Pérez, Conchita Aguilera Velásquez, M^a Benita Martín Sánchez, Rosa Ferré Lorente.

EAP Canet de Mar: Isabel Martín Silvero, Rosa Miras Jodar, Anna Cortada Cabrera, Montserrat Ollé Borqué, Angels Garrido Benito.

CAP Vallcebre: Roser Serra Burillo.

CAP La Pobla de Lillet: M Lluïsa Ferreiro Broz, Lourdes Santaularia Potrony.

CAP Bagà: Irene Prochazka Aguiló, Josep Ignasi Barrio Rubio, Marta Medina Hernández.

CAP Guardiola: Dolors García Navó, Montserrat Sáez i Morón.

CAP Saldes i CAP Gòsol: M. Dolors Camprubí Casellas.

CAP Castellterçol: Manuel Arza Peral, Araceli Burgos Fernández, Patricia Cajal Milagro, Glòria Mascaró Crusat.

CAP St. Vicenç: Fina Serra Prat.

CAP Sallent: Esther Suades Sabaté, Isabel Siles Porras.

CAP Sagrada Família (Manresa): Núria Solanas Bacardit, Imma Padilla Hidalgo.

CAP Navarcles: Rosa M. Vancell Varonil.

CAP Berga Centre: Dolors Guitart Marcé, Fina Soler Morera.

CAP Vilada: Dolors Escat Artiga.

CAP Avià: M. Àngels Casellas Planas.

CAP Sud Mutua Terrassa: Montse Llordes Llordes, M^a Eugenia Pérez Domínguez, Mercé Villaró Gabarrós, Inma Vázquez Muñoz, Montserrat Roca Vilalta, Joana Carbonell Torrens, Antonia Correas Torrens, Mercedes López, Encarna Romero González.

ABS Centre Hospitalat: Neus Maymó Pijuan, Ana Gallego González, Josep M^a Fandos Olona, Silvia Copetti Fanlo, Vanessa Monforte Rodríguez, Júlia Solé López, Antonia Ribas Batllori, Enric Juncadella García, Jerónimo Lorite Gomez, Maria Murcia Belando, Silvia Lavirgen Iglesias, Vicenç Zahonero Bellmunt, Delia Pérez Serna, Laura Mestre Boleda, Montserrat Boada Baqués, Silvia Milian Ceprià.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

Identification of three mutations in the antithrombin gene

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., De Cos C., Hernández Espinosa D., González-Conejero Hilla R., Sánchez Serrano I., Cano Gracia H., Vicente García V.

Centro Regional de Hemodonación
Universidad de Murcia.

RESUMEN

La antitrombina es el principal anticoagulante hemostático. Desde que el hematólogo Egeber descubriera en 1965 la primera deficiencia de antitrombina asociada a un aumento del riesgo trombótico, numerosos trabajos han identificado familias con deficiencia de antitrombina asociada a una significativa incidencia de trombosis venosa. Este trabajo recoge el estudio de 3 familias trombofílicas españolas con deficiencia congénita de antitrombina. En dos identificamos mutaciones en el gen de la antitrombina no descritas hasta la fecha: InsT7429-30 y Lys125Arg. En la tercera detectamos una variante, la antitrombina Cambridge II (Ala384Ser) identificada con elevada frecuencia en población británica. Valoramos su frecuencia en población española y su papel en el desarrollo de trombosis venosa mediante un estudio de asociación caso-control en 1018 pacientes de trombosis venosa y 1018 controles. Comprobamos que la antitrombina Cambridge II es una alteración no restringida a población británica, estando presente en el 0.2% de la población española pero en un 1.7% de los pacientes con trombosis venosa. Así, el alelo mutado incrementó 9.75 veces el riesgo trombótico. Además, esta mutación es la principal causa de deficiencia de antitrombina en pacientes con trombosis venosa. Finalmente destacamos que la antitrombina Cambridge II únicamente puede ser detectada por métodos moleculares. Todos estos resultados aconsejan el estudio de la antitrombina Cambridge II en los estudios trombofílicos rutinarios.

Palabras claves:

Sistema hemostático, antitrombina, deficiencia de antitrombina, antitrombina Cambridge II, trombosis venosa.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 274-283

ABSTRACT

Antithrombin is the most important haemostatic anticoagulant. Since, in 1965 Egeber described the first antithrombin deficiency associated with an increase of thrombotic risk, many studies have identified families with antithrombin deficiency that caused a significantly increase in the risk of venous thrombosis. We studied three thrombofolic families with congenital antithrombin deficiency. In two of them, we identified mutations in antithrombin gene not described previously: InsT7429-30 and Lys125Arg. In the third family, we detected a variant, antithrombin Cambridge II (Ala384Ser) that had a high frequency in British population. We have evaluated the prevalence of this mutation in Spanish population, and its role in venous thrombosis in a case-control study including 1018 patients with venous thrombosis and 1018 healthy controls. We confirmed that antithrombin Cambridge II is not restricted to British population, as we observed this mutation in 0.2% of Spanish population and in 1.7% of patients with venous thrombosis. The mutated allele increased 9.75 fold the risk of venous thrombosis. Moreover, this mutation was the main cause of antithrombin deficiency among patients with venous thrombosis. Finally, we point that this variant can only be detected by molecular methods. All our data support the study of antithrombin Cambridge II in routine thrombophilic tests.

Keywords:

Haemostatic system, antithrombin, antithrombin deficiency, antithrombin Cambridge II, venous thrombosis.

Correspondencia:
A. Ordóñez González. Centro Regional de Hemodonación
Ronda de Garay s/n. Murcia 30003. España
hadrianusca@hotmail.com

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

INTRODUCCIÓN

La antitrombina (AT) es una glucoproteína de síntesis hepática con peso molecular de 58kDa, que pertenece a la superfamilia de las serpinas y se caracteriza, al igual que la mayoría de las serpinas, por su actividad inhibitoria de enzimas con actividad serin proteasa (de ahí su nombre: SERin Proteasa INhibitors) (1). La AT es el principal anticoagulante endógeno, pues inhibe a la enzima procoagulante más importante, la trombina (FIIa), y a otras enzimas de la coagulación como son los factores Xa, IXa, XIa y XIIa. La deficiencia incluso moderada de la molécula aumenta el riesgo trombótico hasta un 50%, y la deficiencia completa de la proteína está asociada con la letalidad embrionaria (2). Por todo ello, la AT es quizás el principal elemento regulador del sistema hemostático con mayor trascendencia funcional.

En 1965 el hematólogo noruego Olav Egeberg presentó el primer estudio que asociaba un defecto hereditario del control de la coagulación, precisamente deficiencia de AT, con la enfermedad tromboembólica (3). Comprobó que los sujetos con niveles reducidos de AT (en un rango del 40-50% respecto a sujetos sanos) desarrollaban episodios severos y tempranos de trombosis venosa (3). Así, la publicación de Egeberg inició la trombofilia como un área de investigación relevante y como una disciplina clínica importante. La primera mutación descrita en el gen de la AT y responsable de una deficiencia fue en 1983 (4), y desde entonces más de 184 mutaciones distintas han sido identificadas en pacientes con trombosis venosa, la mayoría en estado heterocigoto (5-7). Sin embargo, pese a ser un trastorno severo que aconseja su estudio en situaciones de trombofilia, su incidencia es muy baja. En la población general se estima que 1/1400 (0,07%) sujetos sanos presenta una deficiencia de AT (8). Por otra parte, la incidencia en patología tromboembólica venosa tampoco es muy elevada. Aproximadamente un 2% de los pacientes con trombosis venosa (rango que oscila entre el 1 y 8%) tienen déficit de este anticoagulante (9). Además, como ocurre con otras mutaciones puntuales severas, la mayor parte de las mutaciones descritas han sido identificadas en una sola familia, y son raros los casos

en los que se identifica la misma alteración en sujetos no relacionados.

La identificación de nuevas mutaciones en el gen de la AT puede ayudar a conocer nuevos aspectos funcionales y estructurales del principal anticoagulante del sistema hemostático. Por ello, el objetivo de nuestro trabajo fue estudiar la base molecular de la deficiencia de AT en 3 familias trombofílicas españolas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes y análisis de trombofilia

1. Familias con deficiencia de Antitrombina.
Tres familias trombofílicas españolas fueron estudiadas por presentar factores de riesgo trombótico.

Familia 1: Es una familia con una clara evidencia de historia trombofílica familiar (4 antecesores desarrollaron evento trombótico antes de los 70 años). El propositus fue un varón de 57 años de edad con hipercolesterolemia como único factor de riesgo, que tras sufrir un severo dolor abdominal se le realizaron las pruebas radiológicas correspondientes. El estudio mediante tomografía computarizada reveló una trombosis de la vena mesentérica superior. Ante esto se le instauró un tratamiento anticoagulante (acenocumarol 3mg/día) durante 9 meses. Sin embargo, la retirada del tratamiento provocó un nuevo dolor abdominal en el paciente, y aunque no se pudo objetivar un nuevo episodio de trombosis se le estableció un tratamiento anticoagulante oral indefinido.

Familia 2: Se trata de una extensa familia caucasiana con una elevada incidencia de episodios trombóticos (10 de los 33 miembros sufrieron algún evento trombótico). El propositus fue una mujer de 29 años que desarrolló un episodio de trombosis venosa profunda a los 20 años de edad asociado a cirugía y al consumo de anticonceptivos orales.

Familia 3: Estudiamos una familia trombofílica en la que el propositus, un varón de 45 años sin ningún factor de riesgo trombótico venoso o arterial conocido, presentó un episodio agudo de aplasia y hemiplejia del brazo y pierna derecha.

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

El estudio mediante resonancia magnética y tomografía computerizada de la cabeza, reveló un infarto en el territorio de la arteria cerebral anterior derecha. Además, el paciente mostró elevada fiebre ($38\text{--}39^{\circ}\text{C}$) que cursó con una broncopulmonía bilateral. El estudio mediante eco-doppler de los vasos del cuello y angiografía por tomografía computerizada mostró la presencia de un trombo en la arteria carótida interna izquierda causando una obstrucción de la luz arterial de más del 70%.

Análisis de trombofilia: En las 3 familias se realizó un estudio trombofílico familiar que incluyó la determinación de anticuerpos anti-fosfolípidos, proteína C, proteína S, deficiencia de AT, niveles de fibrinógeno, FVIII y homocisteína en plasma y resistencia a la proteína C activada. Evaluamos los dos polimorfismos protrombóticos clásicamente reconocidos, FV Leiden (FVL) y protrombina G20210A (PT), y uno recientemente identificado por nuestro grupo (ZPI, R67X) (10). La funcionalidad de la AT se determinó por su capacidad de inhibir al FXa, empleando FXa bovino y substrato cromogénico específico (S-2765) (Instrumentation Laboratory). Los niveles antigenicos fueron medidos por inmunodifusión (Laurell). El análisis genético implicó la amplificación mediante PCR de los 7 exones de la AT, su purificación en gel de agarosa al 1,5% y posterior secuenciación (ABI prism Big Dye con el kit de secuenciación 377), usando los dos primeros empleados en la amplificación. El estudio conformacional de la AT fue evaluado por métodos electroforéticos siguiendo las indicaciones previamente publicadas por nuestro grupo (11). Finalmente usamos la técnica de inmunolectroforesis cruzada para determinar la presencia de AT con baja afinidad por heparina.

2. Estudio caso-control. La prevalencia de la AT Cambridge II fue evaluada en un estudio caso-control que incluyó 1018 pacientes consecutivos con al menos un episodio confirmado de tromboembolismo venoso antes de los 75 años y 1018 controles sin historial trombótico, de las mismas zonas y sexo, y similar edad que los pacientes. Las muestras procedieron de 4 hospitales españoles: Hospital General Universitario (Murcia), Hospital de

la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona), Hospital Clínico Universitario (Salamanca) y Clínica Universitaria de Navarra (Pamplona). El estudio genético de la AT Cambridge II implicó amplificación del exón 6 de la AT mediante PCR. La identificación de la mutación causante de la AT Cambridge (Ala384Ser) se realizó mediante una PCR de alelo específico seguido de análisis de restricción (PCR-ASRA) con la enzima Pvu II (New England Biolabs, Hitchin, England). Los casos positivos los confirmamos mediante secuenciación (ABI prism Big Dye con el kit de secuenciación 377).

Estudio funcional de la AT Cambridge II: Plasma citratado de 20 portadores de la AT Cambridge II (16 en heterocigosis y 4 en homocigosis), y de 17 controles sin la mutación se emplearon para realizar los estudios funcionales. Además de determinar la actividad Anti-FXa de la AT, se analizó la actividad Anti-IIa empleando trombina bovina y sustrato cromogénico específico (Ethylmalonyl-S-Pro-Arg-pNA. AcOH-CBS 61.50) (STA Antithrombin, Diagnostica Stago). Para la realización de estos ensayos funcionales empleamos dos tipos de heparinas: heparina no fraccionada y heparina de bajo peso molecular (bemiparina), ambas cedidas por los Laboratorios Rovi S.A. Los niveles antigenicos fueron medidos por inmunodifusión (Laurell).

Los resultados fueron expresados como porcentaje con respecto a un pool de plasma de 100 controles sanos.

Ánalisis estadístico: Las variables continuas las expresamos como media \pm desviación estándar. La comparación de medias absolutas entre los 2 grupos se realizó mediante las pruebas de t de Student no apareada o el test de chi-cuadrado. El test chi-cuadrado se empleó para realizar un análisis estadístico univariable. El cálculo de la odds ratio (OR) para el estudio caso control se realizó por el software EpiInfo (Centro de control de enfermedades, Atlanta, Georgia, USA). Diferencias con valores de $p \geq 0.05$ las hemos considerado estadísticamente significativas.

Todos los sujetos incluidos en el estudio, miembros de las familias portadoras de deficiencia de AT y pacientes del estudio caso-control, dieron su consentimiento informado para entrar en el

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

estudio, de acuerdo a la declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983.

RESULTADOS

1. Identificación de la base molecular de las deficiencias de AT en las familias trombofílicas.

Familia 1. Identificamos 2 alteraciones protrombóticas en esta familia: FVL y deficiencia congénita de AT tipo I. Tres miembros de una rama de la familia portaron FVL y 4 familiares de otra rama presentaron deficiencia congénita de AT, entre los que se encontró el propositus como muestra la figura 1A. El análisis genético reveló una mutación en heterocigosis en el exón 4 de la AT que consiste en la inserción de una timina en posición aminoacídica 7429-30 (Figura 1B). Esta mutación causó un cambio en la fase de lectura

provocando la aparición de un codón stop prematuro en posición 240. Este resultado justifica la deficiencia tipo I que detectamos en los portadores (38,3% de nivel antigenico y 41,5% de actividad funcional) (Figura 1C).

Familia 2. Identificamos 3 alteraciones genéticas protrombóticas: FVL, PT y deficiencia de AT. Destacamos que 11 miembros de la familia portaban dos factores de riesgo genético (3 PT+/- & FVL+/-, 7 PT+/- & deficiencia AT +/- y 1PT +/+) y 2 pacientes (I-6, I-8) portaron los tres factores (Figura 2A). Desde el punto de vista clínico la coexistencia de factores de riesgo se asoció con mayor incidencia de episodios trombóticos, menor edad de aparición de la primera trombosis y mayor índice de recurrencia (Figura 2B).

El estudio genético de la AT mostró una mutación puntual en heterocigosis localizada en el exón 3a (g.5904 A>G, c.546 A>G) responsable

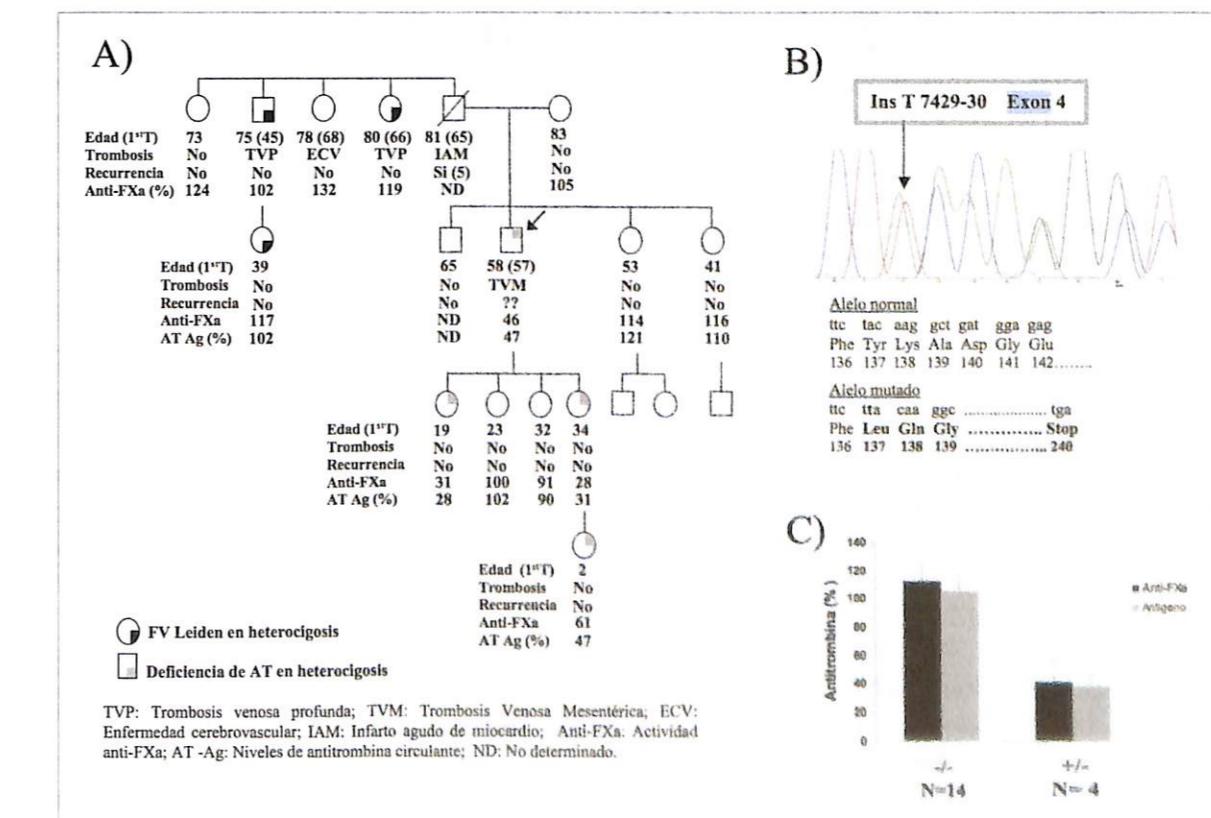


Fig. 1. A) Familia 1. Pedigrí de la familia trombofílica española estudiada con propositus identificado con una flecha. Se indica el tipo y localización del evento trombótico, recurrencia y niveles antigenicos y funcionales de AT. Los símbolos representan los factores de riesgo genético identificados. B) Análisis de secuencia del exón 4 de la AT del propositus, mostrando la inserción de una Timina en posición 7429-30, que causa la aparición de un codón stop prematuro en posición 240. C) Valores funcionales y antigenicos de la AT en miembros de la familia agrupados por genotipo InsT 7429-30.

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

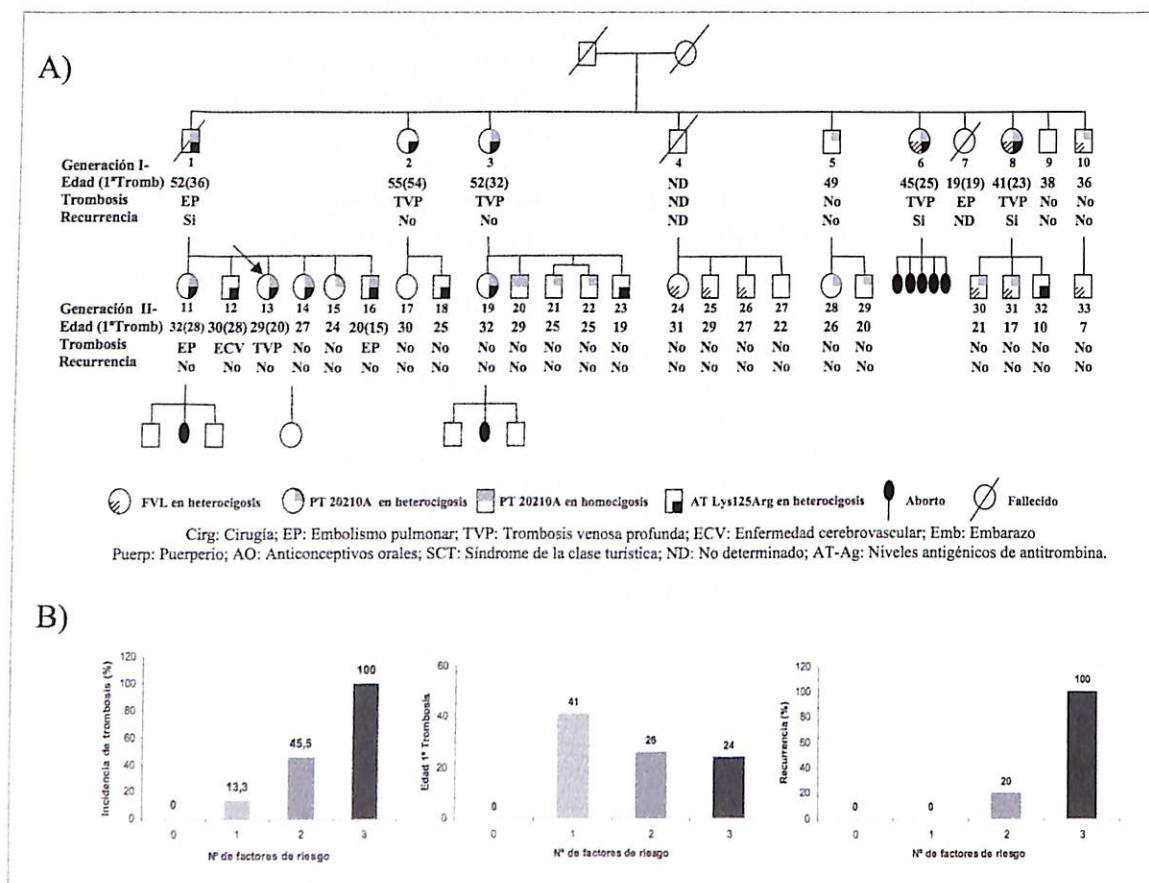


Fig. 2. A) Familia 2. Pedigrí de la segunda familia trombofílica estudiada con el propositus identificado con una flecha. Tipo y localización de evento trombótico, recurrencia, otros factores de riesgo y niveles antigenicos y funcionales de la AT son indicados. Los símbolos hacen referencia a los factores de riesgo identificados en esta familia. B) Consecuencias clínicas de la coexistencia de factores genéticos de riesgo: Incidencia de trombosis, edad de aparición de 1ª trombosis y recurrencia.

del cambio aminoacídico Lys125Arg (Figura 3A) que a pesar de afectar al sitio de unión a heparina (característico de deficiencias tipo II) (Figura 3B) produjo una deficiencia tipo I (58.6% de nivel antigenico y 59.5% de actividad funcional). De hecho, el estudio de AT plasmática mediante inmunoelectroforesis cruzada no reveló aumento de la forma con baja afinidad por heparina (Figura 3C).

Familia 3. Identificamos una familia trombofílica cuyos análisis bioquímicos fueron normales, y las pruebas de trombofilia negativas, excepto una ligera deficiencia funcional (80.4%) y antigenica de la AT (87.9%). La severa clínica y la historia familiar de trombosis (Figura 4A) justificó la secuencia de todas las regiones codificantes y regiones flanqueantes del gen de la AT, cuyos resultados revelaron una única mutación puntual en

heterocigosis localizada en el exón 6 (g.1246 G>T) responsable del cambio aminoacídico Ala384Ser (Figura 4B). Esta mutación corresponde a la AT Cambridge II, que confirmamos por PCR-ASR (Figura 4C). Cuatro miembros de las 3 generaciones estudiadas de esta familia mostraron la misma mutación, todos ellos en heterocigosis.

Por último destacar que los análisis electroforéticos no revelaron conformaciones anormales de la AT en ninguna de las 3 familias estudiadas.

2. Papel trombótico de la AT Cambridge II. La mutación puntual afectó a un residuo alanina conservado en la familia de las serpinas, localizado en una región estructuralmente relevante en el mecanismo de acción inhibitorio de las serpinas: residuo P10 del centro reactivo, justo

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

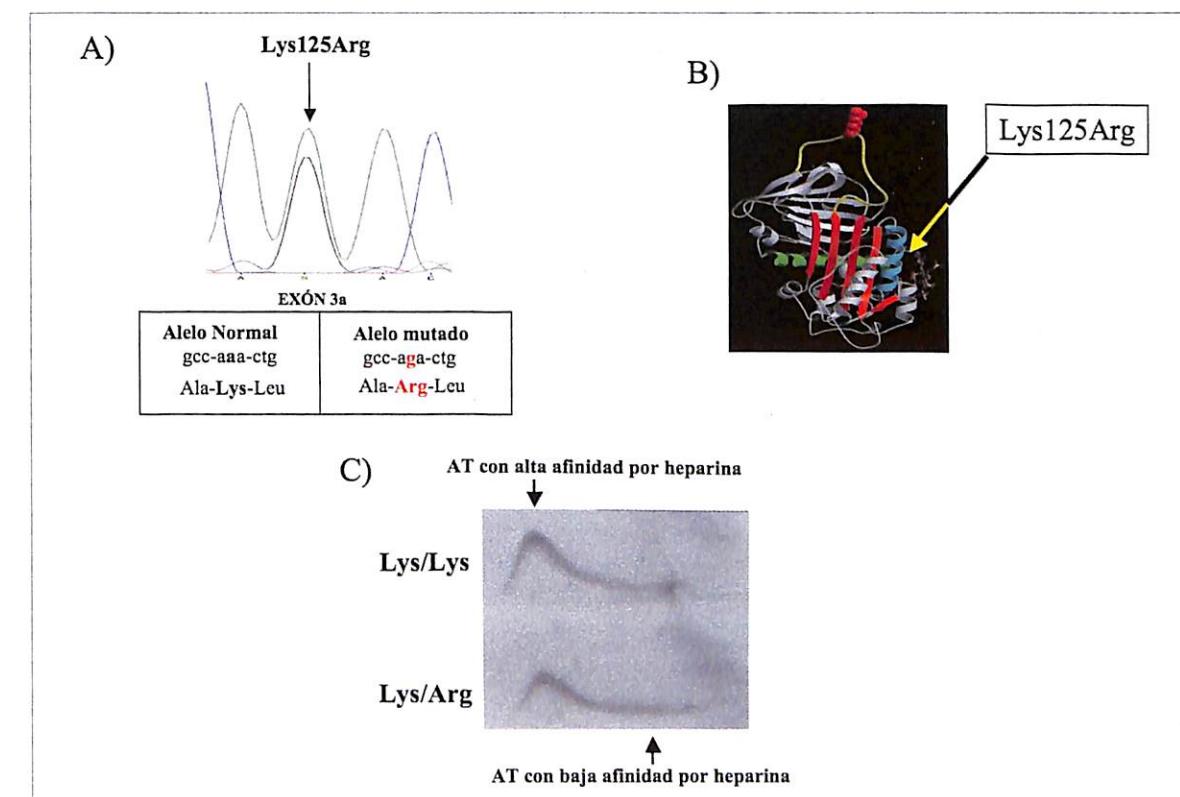


Fig. 3. Familia 2. A) Mutación identificada en el exón 3a del gen de la AT. B) Residuos involucrados en el dominio de unión a heparina de la AT. Identificamos el residuo afectado por la mutación Lys125Arg. C) Inmunoelectroforesis cruzada del plasma del paciente I-6.

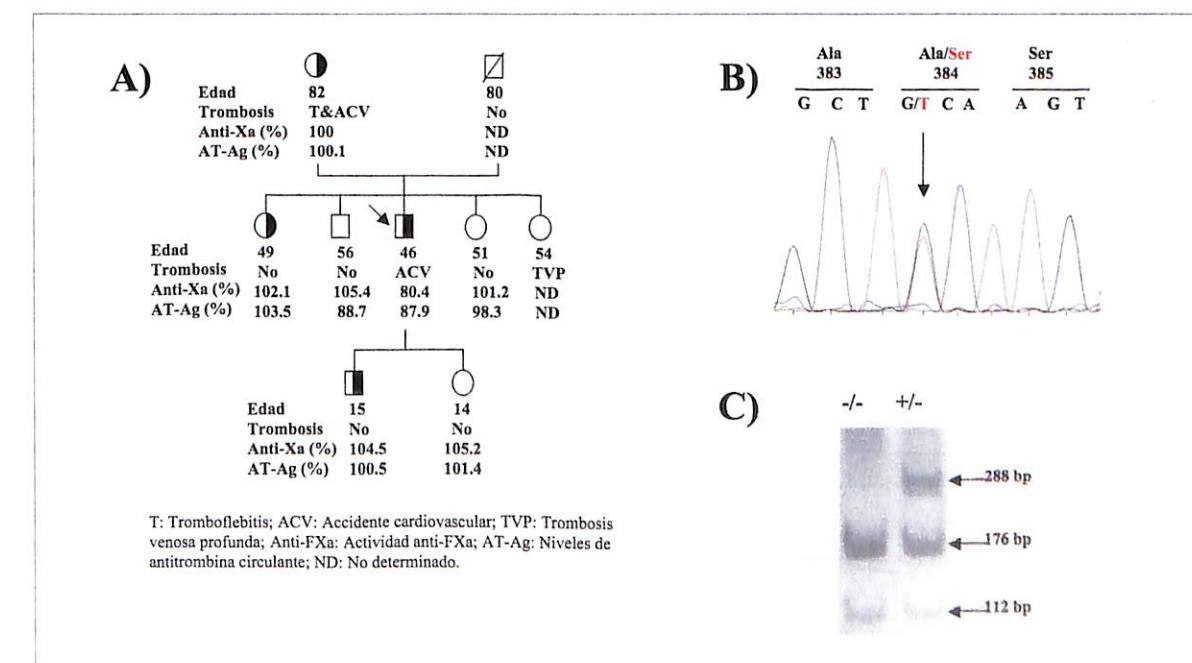


Fig. 4. A) Familia 3. Árbol genealógico de la familia estudiada con el propositus identificado con una flecha. Los portadores de la mutación Cambridge II se muestran con el símbolo relleno. B) Identificación de la mutación A384S en la secuencia del gen de la AT. C) Identificación mediante PCR-ASRA con PvU II de la AT Cambridge II.

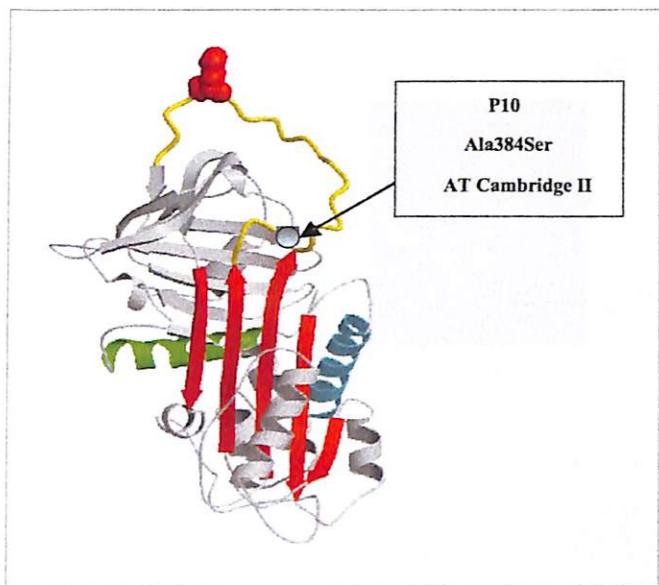


Fig. 5. Localización de la AT Cambridge II (A384S) en la estructura tridimensional de la AT.

en la bisagra proximal (Figura 5). Esta mutación fue detectada únicamente en 2 controles (0.2%): 2 mujeres de 31 y 42 años no relacionadas. En contraste, la mutación se presentó en 17 pacientes (1,7%) de trombosis venosa. En todos los casos la mutación fue identificada en estado heterocigoto. Estos resultados indican que la AT Cambridge aumenta el riesgo trombótico hasta 8 veces ($p=0.001$; 95% CI: 1,9-54,2). Análisis multivariante determinó que la AT Cambridge II es un factor genético de riesgo trombótico independiente ($p=0.002$; OR= 9,75; 95% CI: 2,2-42,5).

Efecto funcional de la AT Cambridge II. Evaluamos las consecuencias funcionales de esta mutación en 37 sujetos, 17 controles y 20 portadores de la mutación Ala384Ser (16 en heterocigosis y 4 en homocigosis). Los niveles antigenicos y funcionales anti-Xa (en presencia de heparina no fraccionada y heparina de bajo peso molecular, bempiparina) estuvieron dentro del rango de la normalidad en portadores y controles, y sólo encontramos diferencias significativas cuando comparamos niveles de actividad anti-Xa, en presencia de heparina no fraccionada, de controles y de portadores homocigotos ($100.2\pm4.3\%$ vs. $91.7\pm10.5\%$, respectivamente $p=0.016$). La actividad anti-IIa en presencia de heparina no fracc-

cionada estuvo ligera pero significativamente reducida en portadores, ($79.3\pm7.8\%$; rango 66,9-90,8%) frente a los controles ($100.0\pm7.9\%$; rango 87,5-118,0%); $p<0.001$. Adicionalmente, observamos un significativo efecto gen-dosis en este parámetro. Así, la actividad anti-IIa en portadores heterocigotos en presencia de heparina no fraccionada fue del $81.8\pm6.6\%$ (rango 70,6-90,8%) mientras que en homocigotos fue del $69.5\pm2.4\%$ (rango 66,9-72,6%); $p=0.002$. La actividad anti-IIa, en presencia de heparina de bajo peso molecular también estuvo reducida significativamente en portadores frente a los controles ($90.1\pm9.5\%$, rango 73,4-107,6% vs. $100.6\pm7.5\%$, rango 84,9-113,2; $p>0.001$) y encontramos diferencias significativas entre heterocigotos y homocigotos ($92.4\pm9.1\%$, rango 73,4-107,6% vs. $81.0\pm3.6\%$, rango 76,5-85,1%; $p=0.027$).

DISCUSIÓN

La trombosis venosa es una enfermedad de gran relevancia en nuestra sociedad debido a su elevada incidencia, superior a 1 caso por cada 1000 habitantes y por año y debido a su elevada morbilidad (12). Esta situación justifica la búsqueda de nuevos factores genéticos que sean capaces de incrementar el riesgo trombótico. Este estudio podría ayudar a definir nuevos marcadores trombóticos que afectaran a relevantes proteínas hemostáticas como la AT, permitiendo definir diagnósticos y tratamientos terapéuticos más precisos y seguros.

La localización más frecuente de la trombosis es el sistema venoso profundo, sin embargo existen otros lugares diana de trombosis de gran relevancia debido a su severidad, como puede ser trombosis de venas mesentéricas. Aunque la trombosis de venas mesentérica es infrecuente, son sitios característicos de trombosis en sujetos con deficiencia de AT. Así entre un 8,3% y un 10,4% de pacientes sintomáticos con deficiencia de AT sufren trombosis de la vena mesentérica superior (13). Nosotros identificamos un nuevo caso de trombosis de la vena mesentérica superior asociado con deficiencia congénita de AT. La inserción de un único nucleótido, timina en posición nucleotídica 7429-30 no descrita previamen-

te (5), en estado heterocigoto causó un cambio en la fase de lectura y la aparición de un codón stop prematuro en posición 240. Este caso muestra similitud con otro paciente con deficiencia congénita de AT (insT7384 que causa aparición de un codón stop prematuro en posición 232) que desarrolló un episodio de trombosis de la vena mesentérica superior (14). Además, los únicos tres casos de trombosis de la vena mesentérica superior asociados a una deficiencia genética de AT encontrados en la literatura se asocian con la aparición de un codón stop prematuro en posiciones: 240,232 y 365 (14,15). Finalmente, en todos los casos de trombosis de la vena mesentérica superior asociados a una deficiencia congénita de AT, ésta fue tipo I (clínicamente más severa). Esto apoya que un elevado riesgo trombótico o un estado hipercoagulable muy severo es necesario para desarrollar trombosis mesentérica. Por tanto, debido a la gravedad clínica de la trombosis mesentérica y a que un 10% de pacientes con deficiencia de AT tienen trombosis de la vena mesentérica superior, sugerimos que ante los primeros síntomas clínicos de esta enfermedad en pacientes con deficiencia de AT se le deberían realizar inmediatamente las pruebas diagnósticas de trombosis mesentérica.

Actualmente se sabe que, la trombosis venosa es una enfermedad poligénica y multifactorial, resultado de la interacción de factores de riesgo genéticos y ambientales. Por ello, la coexistencia de factores de riesgo supone un aumento significativo del riesgo trombótico (16). El estudio de familias en las que coexisten factores de riesgo genético, aunque sean infrecuentes, ayuda a definir el papel de cada alteración genética, así como la relevancia de su interacción. Son raros los casos en los que se combina algún factor de riesgo a una deficiencia de AT sin embargo, nosotros identificamos una familia trombofílica en la que además de identificar una nueva mutación en el gen de la AT (Lys125Arg), no incluida en ninguna base de datos de mutaciones de AT (Imperial College of London; OMIM; HGMD) (6,7) o de serpinas (17), detectamos su coexistencia con otras 2 alteraciones protrombóticas: FVL y PT. A pesar de que la mutación detectada en la AT afecta a un residuo de unión a heparina, los portadores no tuvieron un déficit tipo II de la molécula, sino

un tipo I severo. Este efecto puede explicarse por la relevancia estructural del residuo afectado. Destacamos que la AT, al igual que el resto de las serpinas, se caracteriza por una enorme flexibilidad estructural, crucial para el correcto desarrollo de su función anticoagulante. Sin embargo, dicha propiedad la hace especialmente sensible a diferentes factores (genéticos y ambientales) que puedan afectar a su estructura y a su funcionalidad (18). De esta manera, la mutación del residuo Lys125, aminoácido altamente conservado, podría impedir interacciones con otros residuos de la molécula ocasionando la disrupción de la hélice D, que comprometería la organización estructural de la molécula completa, resultando una molécula no secretada. Esta es una situación similar a lo descrito para la mutación, Leu126Pro, que afecta al residuo adyacente (19). Clínicamente, nuestros resultados confirman que la acumulación de factores genéticos incrementa de forma sinérgica el riesgo trombótico, en incidencia, severidad y recurrencia. Esto apoya que pacientes con acumulación de factores de riesgo trombótico deben recibir una profilaxis antitrombótica más intensa ya que la terapia convencional puede resultar ineficaz.

Finalmente los resultados más interesantes son los obtenidos del estudio de la AT Cambridge II. Demostramos que la AT Cambridge II no es exclusiva de población británica. Nuestros resultados confirman que la mutación está presente en el 0,2% de la población española sana, un porcentaje idéntico al de la población británica, y en el 1,7% de pacientes con trombosis venosa. Estos datos apoyarían que la mutación responsable de la AT Cambridge II se comporta de manera intermedia entre un polimorfismo (como el FVL, con alta prevalencia en la población) y una mutación (infrecuente, pero con elevado riesgo trombótico). La trascendencia clínica de esta alteración que parece ser importante, tiene más trascendencia con los estudios funcionales, ya que indican que esta mutación pasaría desapercibida con el empleo de los sistemas clásicos de diagnóstico de deficiencia de AT. Así, los niveles antigenicos y funcionales anti-Xa de portadores fueron normales. El único dato funcional que hacía suponer que esta alteración causase una deficiencia de AT era una reducida actividad anti-IIa. El cambio

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

A384S, que afecta al residuo P10, es responsable mediante múltiples mecanismos alostéricos, de que la forma variante se comporte como sustrato del FXa y especialmente de la trombina, particularmente en presencia de heparina no fraccionada. Así, en presencia de heparina, los portadores de esta alteración tenían una capacidad de inhibición del FXa y trombina 3 y 7 veces menor, respectivamente, que la forma nativa no mutada, confirmando los datos de un estudio previo (20).

Estos resultados sugieren evaluar con precaución los estudios de trombofilia obtenidos de sistemas clásicos, usados rutinariamente en clínica para diagnosticar la deficiencia de AT (medida de niveles antigenicos y actividad anti-FXa), pues la AT Cambridge II pasaría desapercibida. Finalmente destacamos que esta mutación es de gran relevancia en estudios de trombofilia ya que, el porcentaje de pacientes con deficiencia de AT debidas a esta alteración es igual al conjunto del resto de deficiencias de AT.

AGRADECIMIENTOS

Este artículo ha sido realizado gracias a la financiación de los proyectos SAF 2003-00840, SAF 2006-06212 y la Red RECAVA (ISCIII). Adriana Ordóñez ha sido becaria predoctoral de la "Fundación Mapfre Medicina" en la Universidad de Murcia. Los resultados de este estudio han sido publicados en las siguientes revistas internacionales: 1) Thromb Res 2007; In press. Bagnobianchi A, Ordóñez A, Minano A, et al. A novel mutation in the antithrombin gene (insT 7429-30) causes superior mesenteric vein thrombosis. 2) Thromb Haemost 2007; 97: 153-5. A Ordóñez, C de Cos; A Miñano, et al. Coexistence of three genetic risk factors in a Spanish Thrombophilic Family: factor V Leiden, Prothrombin 20210 and a new Type I antithrombin deficiency. 3) Blood 2007; prepublished online. J Corral, D Hernández-Espinosa, J M Soria, et al. Antithrombin Cambridge II (A384S): an underestimated genetic risk factor for venous thrombosis.

Ordóñez González A., Corral De la Calle J., Miñano Navarro A., et al.

Caracterización de tres mutaciones en el gen de la antitrombina

- Gesellschaft fur Thrombose- und Hamostaseforschung (GTH) Study Group on Natural Inhibitors. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996; 16:742-8.
14. Muta T, Okamura T, Kawamoto M, Ichimiya H, Yamanaka M, Wada Y, et al. Successful therapy with argatroban for superior mesenteric vein thrombosis in a patient with congenital antithrombin deficiency. Eur J Haematol 2005; 75:167-70.
 15. Takenaga M, Horinouchi K, Shirieda K, Fukudome T, Fujimoto T. A novel nonsense mutation in the antithrombin III gene (Ser365 to stop) causing deep and mesenteric venous thromboses. Thromb Haemost 2001; 85:570-1.
 16. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. Lancet 1999; 353:1167-73.
 17. The Serpin Database. Structural medicine. http://www.structmed.cimr.cam.ac.uk/Serpins/serp_regions/table2.html Last revision August 2006.
 18. Corral J, Vicente V, Carrel RW. Thrombosis as a conformacional disease. Haematologica. 2005; 90:238-46.
 19. Perry DJ. Ectopic transcript analysis in human antithrombin deficiency. Blood Coagulation and Fibrinolysis 1995; 6:531-6.
 20. Mushunje A, Zhou A, Carrell RW, Huntington JA. Heparin-induced substrate behaviour of antithrombin Cambridge II. Blood 2003; 102: 4028-34.

Referencias bibliográficas

1. Ye S, Goldsmith EJ. Serpins and other covalent protease inhibitors. Curr Opin Struct Bio 2001; 11:740-5.
2. Ishiguro K, Kojima T, Kadomatsu K, Nakayama Y, Takagi A, Suzuki M, et al. Complete antithrombin deficiency in mice results in embryonic lethality. J Clin Invest 2000; 106: 873-8.
3. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. Thromb Diath Haemorrh 1965; 13: 516-30.
4. Prochownik EV, Antonarakis S, Bauer KA, Rosenberg RD, Fearon ER, Orkin SH. Molecular heterogeneity of inherited antithrombin III deficiency. N Engl J Med 1983; 308:1549-52.
5. Bayston T, Lane D. Imperial College of London. Antithrombin mutation database. <http://wwwfom.sk.med.ic.ac.uk/medicine/about/divisions/is/haemo/coag/antithrombin>.
6. OMIM. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=107300>.
7. HGMD. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=SERPINC1>.
8. Tait RC, Walker ID, Davidson JF, Islam SI, Mitchell R. Antithrombin III activity in healthy blood
- donors: age and sex related changes and prevalence of asymptomatic deficiency. Br J Haematol 1990; 75:141-42.
9. Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin deficiency: issues in laboratory diagnosis. Arch Pathol Lab Med 2002; 126:1326-336.
10. Corral J, González-Conejero R, Manuel Soria JM, González-Porras JR, Pérez-Ceballos E, Lecumberri R, et al. A nonsense polymorphism in the protein Z-dependent protease inhibitor increases the risk for venous thrombosis. Blood 2006; 108:177-83.
11. Corral J, Rivera J, Martínez C, González-Conejero R, Miñano A, Vicente V. Detection of conformational transformation of antithrombin in blood with crossed immunoelectrophoresis: New application for a classical method. J Lab Clin Med 2003; 142:298-305.
12. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd. Predictors of survival after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based, cohort study. Arch Intern Med 1999; 159:445-53.
13. Pabinger I, Schneider B. Thrombotic risk in hereditary antithrombin III, protein C, or protein S deficiency. A cooperative, retrospective study.

Optimización del uso de Agentes estimulantes del Receptor de la Eritropoyetina (AREs) en pacientes con neoplasias hematológicas basado en el nivel de hemoglobina reticulocitaria

Optimizing the use of Erythropoietin-Receptor stimulating Agents (ERAs) in patients with hematopoietic malignancies based on the level of reticulocyte hemoglobin

Armellini A., García Marcos M. A., Martín J.S., Vidriales M. B., Encinas C., Caballero M.D., Arcos M. J., Colado E., Arroyo M. E., Martín J., Gutiérrez N., Olazábal J., Vásquez L., Hernández Rivas J.M., González Díaz M., San Miguel J.F., García-Sanz R.

Servicio de Hematología
Hospital Universitario de Salamanca
Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca

RESUMEN

Los agentes estimulantes del Receptor de la Eritropoyetina (AREs) se usan en el tratamiento de la anemia de hemopatías malignas (HM). Sin embargo, la tasa de respuestas es variable por diversos factores como el déficit funcional de hierro (DFF). El nivel de hemoglobina (Hb) reticulocitaria es un parámetro fácil de obtener que ha mostrado su utilidad en el diagnóstico del DFF.

El objetivo de este estudio fue identificar qué pacientes con HM tratados con AREs presentan DFF y si la Hb reticulocitaria predice la respuesta hemoglobínica en estos enfermos. Se incluyeron 42 pacientes con diagnóstico de Mieloma Múltiple (n=17), Linfoma no Hodgkin (n=14), Linfoma de Hodgkin (n=3), Leucemia Linfática Crónica (n=4), Síndrome Mielodisplásico (n=2), Leucemia Linfoblástica Aguda (n=1) y Leucemia Mieloblastica Aguda (n=1). Veinticinco fueron tratados con Epoetina-beta, diez y seis con Darbepoetina y uno con Epoetina alfa.

La respuesta fue favorable en el 28%, 53% y 58% de los pacientes a las 3, 6 y 12 semanas de tratamiento, respectivamente. Se detectó DFF en el 17% de los pacientes. En cuanto a la respuesta, no hubo diferencias esta-

ABSTRACT

The Erythropoietin-Receptor stimulating Agents (ERAs) are indicated in the supportive treatment of the anemia in hematological malignancies (HM). However, the response rate is variable due to factors such as the functional iron deficiency (FID). The level of the reticulocyte hemoglobin (RHb) is an easy-to-obtain parameter very useful for the diagnostic of the FID.

The purpose of this study was to evaluate which patients with HM treated with ERAs present FID. In addition, we tried to assess if the level of RH predicts the response in these patients.

We included 42 patients with the following diagnostics: Multiple Myeloma (n= 17), Non Hodgkin Lymphoma (n=14), Hodgkin Lymphoma (n=3), Chronic lymphocytic Leukemia (n=4), Myelodisplastic syndrome (n=2), Acute lymphoblastic Leukemia (n=1), and Acute myeloblastic Leukemia (n=1). Twenty five of them were treated with Epoetin beta, sixteen with darbepoetin alfa and one with Epoetin alfa at standard doses.

The response was favorable in 28%, 53% and 58% of patients at the third, sixth and twelfth week of the treatment,

Correspondencia:
A. Armellini
Hospital Universitario de Salamanca
Servicio de Hematología
Paseo de San Vicente, 58-182. 37007 Salamanca
adria51@hotmail.com

Armellini A, García Marcos MA,
Martín JS, et al

Optimización del uso de Agentes estimulantes
del Receptor de la Eritropoyetina

dísticamente significativas entre los pacientes con y sin DFF, si bien, a mitad de tratamiento, fue ligeramente superior en el grupo sin DFF (57% vs 43%, p>0.05).

El nivel basal de Hb reticulocitaria se correlacionó con el grado de respuesta global a las 12 semanas de finalizar el tratamiento. Así, el 79% de los pacientes respondedores tenían una Hb reticulocitaria inicial >36.5 pg, mientras que este porcentaje bajó al 30% en los no respondedores (p = 0.024).

En resumen, la Hb reticulocitaria es un método sensible y preciso para detectar DFF en pacientes con HM bajo tratamiento con AREs. Además, un nivel elevado de Hb reticulocitaria basal es un parámetro que se asocia con respuesta favorable al tratamiento.

Palabras clave:

Anemia, hemopatías malignas, déficit funcional de hierro, AREs.

respectively. FID was detected in 17% of the patients. The response rate was not statistically significant different between patients with and without FID, although it was slightly superior in the group without FID (57% vs. 43%, p>0.05). Seventy nine percent of patients with a favorable response at twelve weeks showed an initial RH >36.5 pg, while this percentage was only 30% in patients who did not respond (p=0.024).

In conclusion, RH is a sensitive and specific method to detect FID in patients with HM who are treated with ERAs. Furthermore, the high level of RH at the baseline is a predictor of favorable response of treatment, in these patients.

Key words:

Anemia, hematological malignancies, functional iron deficiency, ERAs.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 284-291

INTRODUCCIÓN

La anemia es una complicación frecuente en pacientes con neoplasias hematológicas que tiene notables repercusiones en la calidad de vida, ya que provoca astenia, fatiga y debilidad (1). Algo más del 50% de los pacientes con linfoma, leucemia o mieloma tienen cierto grado de anemia (hemoglobina -Hb <12 g/dL) en algún momento de su evolución (2;3) porcentaje que supera el 80% en el caso de los síndromes mielodisplásicos.(4) La etiología de la anemia en estas enfermedades es multifactorial, ya que la producción y destrucción de hematíes se ve afectada entre otras anomalías por la proliferación del proceso clonal subyacente, los fenómenos apoptóticos que se generan en los progenitores eritroides normales y la deficiente producción de eritropoyetina (EPO) endógena respecto al nivel de Hb que tiene el paciente (producción inadecuada de EPO). Otros factores que pueden estar involucrados son el tratamiento con quimioterapia, la expansión del volumen plasmático y la presencia de fenómenos hemolíticos o deficitarios (5-7).

De todos los factores antes mencionados, la producción inadecuada de EPO resulta ser el más controlable de todos, ya que se dispone de esta hormona para su administración exógena. La

producción de EPO endógena de forma inapropiada para el nivel de Hb es un fenómeno muy frecuente en pacientes con cáncer y en especial en síndromes linfoproliferativos, debido a tres factores principales: producción de IL-1, producción de TNF-alfa y lesión renal (Ej. en mieloma múltiple) (8-10). Todo ello hace que la utilización de agentes estimulantes del receptor de la eritropoyetina (AREs) sea muy eficaz en el tratamiento de soporte de la anemia asociada al cáncer. En las hemopatías malignas hay cuatro entidades en las que los AREs tienen aprobada la indicación: mieloma múltiple (MM), linfoma no Hodgkin (LNH), leucemia linfocítica crónica (LLC) y síndromes mielodisplásicos (SMD). Dicha indicación se basa en la eficacia de estos compuestos para corregir la anemia de estas entidades, que se sitúa en torno al 25% en SMD y al 60% de mielomas y linfomas. (11;12) No obstante, ello supone que cerca del 50% de estos pacientes pueden recibir tratamiento sin obtener ningún beneficio. Esto supone un elevado coste y la exposición innecesaria a efectos secundarios, así como la generación de sentimientos de frustración por el incumplimiento de falsas expectativas (6;13). Ha habido varios intentos para desarrollar sistemas que puedan predecir la respuesta a los AREs en pacientes con cáncer (14;15) pero son imperfectos. Por un

lado, no aseguran suficientemente una buena respuesta o la falta de la misma, ya que su poder de predicción nunca supera el 95% (16). Por otro, con frecuencia son difíciles de llevar a cabo o son necesarios estudios posteriores al inicio del tratamiento. Esto ha estimulado el diseño de nuevas estrategias que permitan predecir la respuesta en estos casos.

Cuando se produce una respuesta favorable ante un tratamiento por anemia, lo primero que tiene lugar es un aumento de los reticulocitos (crisis reticulocitaria). Cuando la respuesta es adecuada, los reticulocitos son ricos en Hb, por lo que un aumento en la cifra de Hb total debe venir precedido por un aumento de la Hb reticulocitaria. En cambio, si la respuesta es desfavorable, no hay crisis reticulocitaria o los reticulocitos carecen de Hb, por lo que no hay aumento de Hb reticulocitaria. Además, el segundo supuesto suele deberse a un déficit funcional de hierro (DFF), en el que la producción de progenitores eritroides supera la capacidad de las reservas para liberar el hierro acumulado, hecho que puede corregirse fácilmente con la administración de suplementos de hierro. La determinación de la Hb reticulocitaria es un parámetro objetivo y fácil de obtener, ya que se encuentra incorporado a la mayoría de los nuevos contadores disponibles en los laboratorios de hematometría actuales.

En este estudio evaluaremos qué pacientes tratados con AREs por anemia asociada a Hemopatías Malignas presentan un DFF y determinaremos si el nivel de Hb reticulocitaria predice la respuesta hemoglobínica en pacientes tratados con AREs por anemia asociada a neoplasias hematológicas.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

El presente estudio fue llevado a cabo en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de Hemopatías Malignas que recibieron tratamiento con (AREs). En todos los casos se excluyó la posibilidad de que la anemia fuera debida a otras causas que no fueran la enfermedad de base o el tratamiento quimioterápico de la misma.

Esquema terapéutico

Todos los pacientes fueron tratados de acuerdo a las recomendaciones de las guías internacionales de uso de eritropoyetina (17;18). Los AREs utilizados y sus dosis fueron: Epoetin-beta, 30.000 U.I. una vez por semana, Darbepoetin-alfa, 150 mcg/semana, 300 mcg/2 semanas o 500 mcg/3 semanas y Epoetin-alfa, 10.000 U.I. tres veces por semana. En todos los casos se procedió a un aumento de dosis a la tercera semana en caso de falta de respuesta. Si a la sexta semana seguía sin haber respuesta, el tratamiento era suspendido y el caso se consideró un fracaso.

Estudios biológicos y calendario de determinaciones

A todos los pacientes se les solicitó la firma de un consentimiento informado mediante el cual se garantizaba su conocimiento del estudio y su aprobación para participar en el mismo. La evaluación de los distintos parámetros se llevó a cabo antes del inicio del tratamiento y a la 1^a, 3^a, 6^a y 12^a semanas de comenzado el mismo. En todos los casos se determinó el hemograma basal, un estudio bioquímico básico con ionograma, pruebas de función hepática y renal, estudio del hierro (sideremia, ferritina, capacidad de fijación de la transferrina, índice de saturación, receptor soluble de transferrina), vitamina B12, ácido fólico, nivel de eritropoyetina, reticulocitos y hemoglobina reticulocitaria. El nivel Hb reticulocitaria se midió en dos contadores automáticos: Sysmex XE-2100 (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza) y ADVIA® 2120 Hematology System, (Bayer Diagnostics, Dublín, Irlanda). Todas las determinaciones fueron llevadas a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante y los estándares de calidad requeridos por la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (AEHH) para medir el número de reticulocitos como la cifra de Hb reticulocitaria.

Respuesta al tratamiento

La respuesta al tratamiento se consideró como favorable cuando el nivel de hemoglobina se in-

cremetó al menos 1 g/dl con respecto al valor basal sin utilizar transfusiones. La respuesta fue evaluada de forma precoz (a la 3^a semana), intermedia (a la 6^a semana) y global (a la 12^a semana).

El DFF fue definido utilizando el algoritmo de Thomas (20) que incluye los siguientes parámetros clínicos: Proteína C Reactiva, Ferritina, Receptor de la Transferrina y Hb Reticulocitaria. De acuerdo con estos parámetros, los resultados quedan representados en dos ejes cartesianos y según sus valores la representación de los mismos quedará localizada en uno de 4 posibles cuadrantes (C) (figuras 1A y B). El C.I es indicativo de personas sanas con depósitos de hierro y eritropoyesis normal, el C.II pacientes con déficit latente de hierro (ferropenia sin anemia), el C.III Agotamiento de los depósitos de hierro y del hierro circulante (ferropenia clásica) y por último el C.IV Anemia por déficit funcional de hierro. Los pacientes que en el estudio basal se encontraban en el C.III (ferropenia clásica) recibieron hierro sin eritropoyetina y fueron excluidos del estudio.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el software 11.0 de SPSS (Chicago, IL). La significación de las diferencias observadas entre medias fue analizada mediante el test Mann Whitney, mientras que para comparar variables dicotómicas se empleó Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Características de los pacientes

Cuarenta y dos pacientes, 24 mujeres y 18 varones, fueron incluidos en el estudio. La media de edad fue de 61 ± 18 años y en todos ellos se descartó la presencia de ferropenia, sangrado, hemólisis y deficiencia de vitamina B12 ó ácido fólico en el momento de la inclusión.

De acuerdo con el diagnóstico hubo: 17 casos con MM, 14 con LNH, 4 con LLC, 3 con LH, 2 con SMD, 1 LMA y una LLA.

Veinticinco de ellos fueron tratados con Epoetina-beta (en dosis 30.000 U.I. una vez por semana), 16 pacientes con Darbepoetina- alfa (9 con 150 mcg/semana, 6 con 300 mcg/2 semanas y 1 con 500 mcg/3 semanas) y finalmente uno con Epoetin-alfa, (10.000 U.I. tres veces por semana). Una vez ajustada la dosis a la respuesta al tratamiento, la media semanal de dosis para cada uno de los distintos AREs fue de 23.337 Us. para Epoetin-beta, 30.000 Us para Epoetin-alfa y 203 mcg. para Darbepoetin-alfa.

Respuesta al tratamiento

La respuesta del nivel de Hb de los pacientes al tratamiento con AREs fue favorable en el 28% de los casos a las tres semanas de tratamiento, en el 53% a la 6^a semana y en el 58% a la 12^a semanas del tratamiento (final del período de observación).

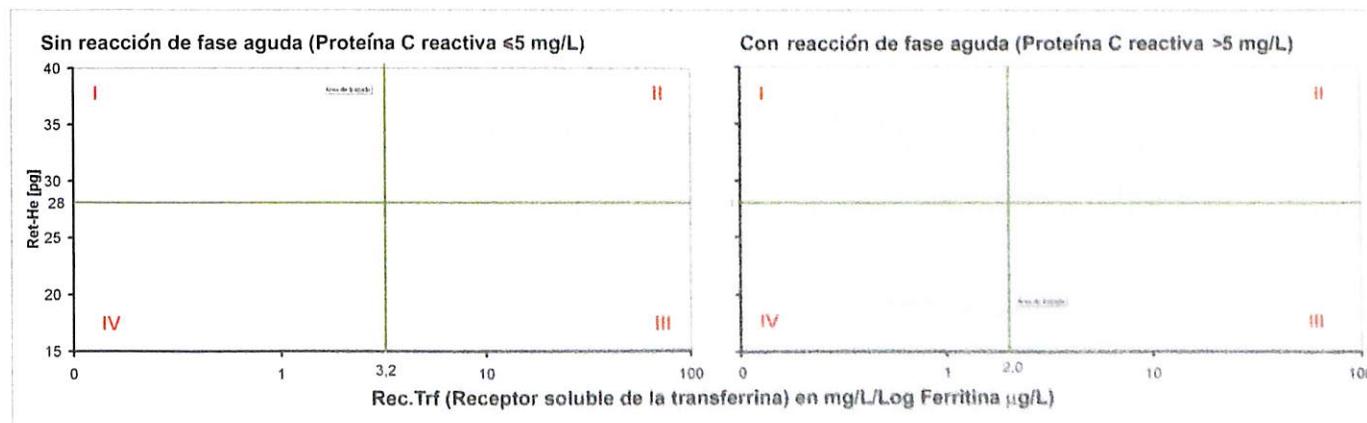


Fig. 1. Evaluación del déficit funcional de Hierro (DFF) según el algoritmo de Thomas. (20) Cada uno de los cuadrantes identifica diferentes estados eritropoyéticos. Los pacientes del cuadrante III se corresponden con anemia ferropénica convencional mientras que los del cuadrante IV se corresponden con anemia por déficit funcional de hierro.

TABLA 1. Características de los pacientes con y sin Déficit Funcional de Fe (DFF)

	Total	Pacientes sin DFF n=35	Pacientes con DFF n=7
Sexo (F/M)	24/18	23/12	1/6
Edad	61±18	60.5±18	63±18
Diagnóstico			
MM	16	12	4
LNH	14	12	2
LH	3	2	1
LLC	4	4	
SMD	2	2	
LCP	1	1	
LLA	1	1	
LMA	1	1	

TABLA 2. Características hematimétricas y parámetros férricos en pacientes con y sin Déficit Funcional de Fe (DFF)

Parámetros	Basal N=42	Pacientes sin DFF			Pacientes con DFF		
		3 ^a S, n=26	6 ^a S, n=21	12 ^a S, n=12	3 ^a S, n=7	6 ^a S, n=7	12 ^a S, n=6
Hb (g/dl)	9.4±1	10±2	11±1.4	11.5±1.4	10.3±0.8	11±2	11±6
Hb.Retic (pg)	37±4	35±4.4	36±4	35±3.2	33±4.6	28.3±3	31.5±5
Fe (μg/dl)	118±74	86±42	104±50	78±27	49±21	43±10	68±34
Rec.Tr (mg/dl)	4±2.5	6±2	6±2	5±2	7.2±3	8±6	5.4±2
Índice de Saturación	49±30	39±31	41±22	27±26	21±15	19±9	28±17
Ferritina (ng/dl)	1236 (40-15917)	759 (16-3530)	1011 (27-8686)	312 (33-737)	356 (32-1542)	196 (16-468)	214 (24-415)
Epo mLU/ml	106±149	225±156	313±587	148±156	87±70	184±164	132±120

Déficit Funcional de Fe

El 17% de los pacientes desarrollaron DFF. De ellos, en 5 casos la DFF se detectó a la 3^a semana del tratamiento, 1 a la 6^a semana y finalmente 1 en la 12^a semana. En todos ellos, se administró Fe por vía oral en forma de sulfato ferroso en dosis estándar. No hubo variaciones de relevancia clínica entre pacientes con y sin DFF que alcanzaran una diferencia estadísticamente significativa (Tablas 1 y 2). No obstante, dentro de los pacientes que no presentaron DFF la respuesta intermedia al tratamiento fue favorable en un 57% de ellos, frente a un 43% de los pacientes en los que sí se detectó la presen-

cia de DFF y sin alcanzar la significación estadística ($p>0.05$). El nivel de EPO basal se correlacionó con el grado de respuesta. Así, los pacientes con niveles de EPO basal (<100 mU/ml) presentaron un mayor porcentaje de respuesta (73%) aunque sin alcanzar las significación estadística.

Niveles de Hb reticulocitaria

La mediana de Hb reticulocitaria basal fue de 37 (24,3-44). Estos datos fueron de 36, 33, 35, y 34,2 cuando se analizó tras la 1^a, 3^a, 6^a y 12^a semanas de tratamiento. No hubo diferencias entre los dos contadores utilizados para su determina-

DISCUSIÓN

En este estudio hemos analizado el valor de la hemoglobina reticulocitaria para evaluar el DFF y predecir la respuesta al tratamiento con AREs en pacientes con anemia asociada a hemopatías malignas. Nuestros resultados muestran que este parámetro fue útil en el diagnóstico del DFF y que un nivel basal elevado se asoció con una respuesta hemoglobínica favorable.

El uso de AREs en el tratamiento de soporte de anemia asociada a neoplasias hematológicas ha pasado en poco tiempo a tener una utilización generalizada (1). Ello es debido a la eficacia de estos compuestos para elevar el nivel de hemoglobina y su potencial para reducir el número de transfusiones y sus efectos secundarios (1;21). Sin embargo, su uso no está exento de problemas. Por un lado son fármacos que pueden tener efectos secundarios, (22;23) y además, el 40% de los pacientes no responden, hecho que perjudica la confianza del paciente en el tratamiento y en la relación médico-paciente, y supone un gasto elevado e innútil (24). Dentro de este apartado, es necesario identificar con prontitud aquellos pacientes que desarrollan un DFF, ya que esta es una causa de fracaso que puede ser fácilmente solucionada con suplementos de Fe (6).

Hay varios estudios que han intentado predecir la respuesta a la rHu-EPO. En el estudio de Ludwig (16), se observó que el mejor previsor de respuesta era el nivel basal de EPO endógena, ya que aquellos pacientes con <100 mU/ml de EPO tenían mayor probabilidad de respuesta favorable, con

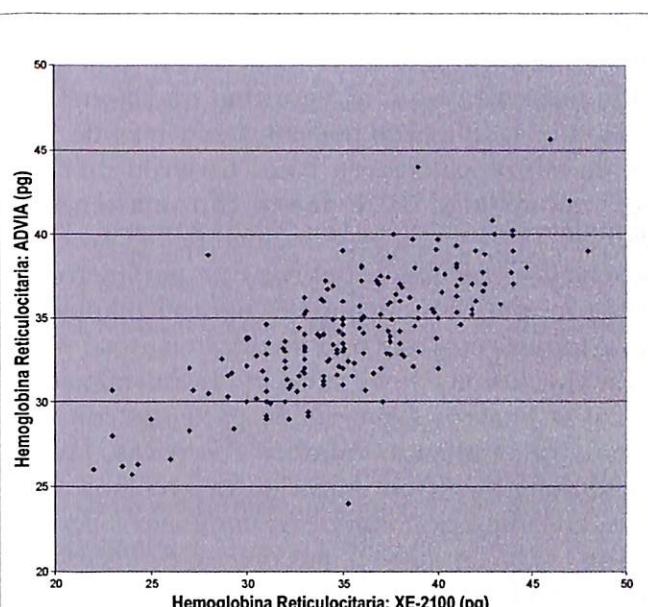


Fig. 2. Correlación lineal de la Hb Reticulocitaria medida en el contador Sysmex XE-2100 y ADVIA 2120.

ción: $R^2 = 0.741$. (Figura 2) No obstante, la media fue de 36.6 ± 4 para el Sysmex XE-2100 vs. 33.7 ± 3.2 para el ADVIA 2120.

Considerando la respuesta a la 12^a semana (global), los pacientes con respuesta favorable mostraron una Hb reticulocitaria basal superior a la de los que no respondieron. De este modo, el 79% de los pacientes respondedores tuvieron una Hb reticulocitaria inicial >36.5 pg, mientras que este porcentaje fue de solo el 30% en los no respondedores ($p=0.024$). (Tabla 3).

TABLA 3. Características de media de la Hb reticulocitaria de los pacientes respondedores y no respondedores

Hb Reticulocitaria Basal (pg)	3 ^a Semana (N=32)		6 ^a Semana (N=30)		12 ^a Semana (N=24)	
	Respuesta N=9	No Respuesta N=23	Respuesta N=16	No Respuesta N=14	Respuesta N=14	No Respuesta N=10
< 36.5 pg	3/14 (21%)	11/14 (79%)	4/13 (31%)	9/13 (69%)	3/10 (30%)	7/10 (70%)
N=18						
> 36.5 pg	6/18 (33%)	12/18 (67%)	12/17 (71%)	5/17 (29%)	11/14 (79%)	3/14 (21%)
N=24						
p		0.36		0.035		0.024

Armellini A, García Marcos MA,
Martín JS, et al

Optimización del uso de Agentes estimulantes
del Receptor de la Eritropoyetina

una especificidad del 95%. No obstante, su sensibilidad era baja, el valor debía ser determinado después de iniciar el tratamiento y el número de pacientes analizados fue escaso ($n=37$) (16). En 146 pacientes, Cazzola (14) obtuvo datos parecidos, aunque el punto de corte fue reducido a 50 mU/ml de EPO, y la especificidad bajaba el 75%. Osterborg (15) obtuvo datos muy similares poco después, con una especificidad del 89%. Estos datos dan pie a la exploración de otras vías para predecir la respuesta al empleo de AREs en estos pacientes que puedan ser más exactos o más sencillos de utilizar. En nuestra serie, los pacientes con niveles de EPO basal bajos (<100 mU/ml) presentaron una mayor tasa de respuesta (73%) pero sin alcanzar la significación estadística, debido probablemente al bajo número de pacientes analizados.

Los nuevos contadores permiten obtener de forma sencilla la Hb reticulocitaria, que es un parámetro que se relaciona con la respuesta al tratamiento en cualquier anemia y permite predecir la respuesta de forma precoz. Además, es un parámetro muy útil en el DFF, que como ya hemos comentado es una de las principales causas de fracaso terapéutico, con la ventaja de que puede ser corregido. En un estudio realizado por Katodrittou (25) la Hb reticulocitaria, junto a hematíes hipocrómicos, ferritina y receptor soluble de la transferrina permite desarrollar el algoritmo de Thomas Plot para diagnosticar el DFF. Además, estos

autores demuestran que el número de hematíes hipocrómicos, junto al valor de la Hb reticulocitaria pueden sustituir al algoritmo tradicional.

En este estudio, los pacientes con más de 36.5 pg de Hb reticulocitaria basal tuvieron una mayor probabilidad de respuesta con una sensibilidad del 79 % y una especificidad del 45%. Dada la sencillez con que se obtiene este parámetro, su valor resulta de gran interés para el manejo de los pacientes con este tipo de tratamientos.

En conclusión, la cifra de la Hb reticulocitaria es capaz predecir respuesta en pacientes con neoplasias hematológicas tratados con AREs, favoreciendo una mejor optimización de recursos. Además, en conjunción con otros parámetros permite llevar a cabo un manejo más preciso de los problemas de DFF que suelen surgir en estos pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a MA. Ramos Rodríguez, M. Sánchez Fernández, MT. Martín Núñez, M. Blanco del Pozo, C. Rodríguez y P. Fernández González por el análisis de Hematimetría, así como al personal del Laboratorio de Bioquímica Clínica y del Hospital de Día por su colaboración para poder llevar a cabo el desarrollo de este estudio. A la Fundación Mapfre Medicina por proporcionar el soporte económico.

Referencias bibliográficas

1. García Sanz R. Guía para el uso de agentes eritropoyéticos en tratamiento de soporte de hemopatías malignas. *Haematologica* 2003; 88 (Suppl 1):48-53.
2. Ludwig H, Birgegård G, Barrett-Lee P, Krzakowski M. Prevalence and management of anemia in patients (pts) with hematologic malignancies (HMs) and solid tumors (STs): Results from the European Cancer Anaemia Survey (ECAS). *Blood* 2002; 100:234A-35A.
3. Ludwig H, Van Belle S, Barrett-Lee P, Birgegård G, Bokemeyer C, Gascon P et al. The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): A large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. *European Journal of Cancer* 2004; 40:2293-306.
4. Sanz MA, Lorenzo JI, Sanz GF, Garcia S, Amigo V, Vallespi T et al. Validation of Survival-Predictive Models in Myelodysplastic Syndromes. *American Journal of Hematology* 1989; 30:44.
5. Smith DH, Goldwasser E, Vokes EE. Serum Immunoerythropoietin Levels in Patients with Cancer Receiving Cisplatin-Based Chemotherapy. *Cancer* 1991; 68:1101-05.
6. Cazzola M, Mercuriali F, Brugnara C. Use of recombinant human erythropoietin outside the setting of uremia. *Blood* 1997; 89:4248-67.
7. Koury MJ, Bondurant MC. Erythropoietin Retards DNA Breakdown and Prevents Programmed Death in Erythroid Progenitor Cells. *Science* 1990; 248:378-81.
8. Faquin WC, Schneider TJ, Goldberg MA. Effect of Inflammatory Cytokines on Hypoxia-Induced Erythropoietin Production. *Blood* 1992; 79:1987-1994.
9. Jelkmann W, Pagel H, Wolff M, Fandrey J. Monokines Inhibiting Erythropoietin Production in Human Hepatoma Cultures and in Isolated Perfused Rat Kidneys. *Life Sciences* 1992; 50:301-308.
10. Means RT, Krantz SB. Progress in Understanding the Pathogenesis of the Anemia of Chronic Disease. *Blood* 1992; 80:1639-1647.
11. Ludwig H, Fritz E, Kotzmann H, Hocker P, Gisslinger H, Barnas U. Erythropoietin Treatment of Anemia Associated with Multiple-Myeloma. *New England Journal of Medicine* 1990; 322:1693-1699.
12. Garton JP, Gertz MA, Witzig TE, Greipp PR, Lust JA, Schroeder G et al. Epoetin Alfa for the Treatment of the Anemia of Multiple-Myeloma - A Prospective, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Trial. *Archives of Internal Medicine* 1995; 155:2069-2074.
13. San Miguel JF. Supportive therapy for complications in multiple myeloma. In Education sessions of the second meeting of the European Haematology Association, 1996. Blackwell Science Ltd, Oxford 1996, pp 12-16.
14. Cazzola M, Beguin Y, Ponchio L, Farina G, Pedrotti C, Rosti V et al. Early prediction of response to recombinant human erythropoietin in patients with nonrenal anemia by serum erythropoietin and transferrin receptor. *Blood* 1995; 86:1906.
15. Osterborg A, Boogaerts MA, Cimino R, Essers U, Holowiecki J, Juliusson G et al. Recombinant human erythropoietin in transfusion-dependent anemic patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma - A randomized multicenter study. *Blood* 1996; 87:2675-2682.
16. Ludwig H, Fritz E, Leitgeb C, Pecherstorfer M, Samonigg H, Schuster J. Prediction of Response to Erythropoietin Treatment in Chronic Anemia of Cancer. *Blood* 1994; 84:1056-1063.
17. Rizzo JD, Lichtin AE, Woolf SH, Seidenfeld J, Bennett CL, Cella D et al. Use of epoetin in patients with cancer: Evidence-based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology. *Journal of Clinical Oncology* 2002; 20:4083-4107.
18. Rizzo JD, Lichtin AE, Woolf SH, Seidenfeld J, Bennett CL, Cella D et al. Use of epoetin in patients with cancer: evidence-based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology. *Blood* 2002; 100:2303-2320.
19. Henry D, Abels R, Larholt K. Prediction of Response to Recombinant-Human-Erythropoietin (R-HuEpo/Epoetin-Alpha) Therapy in Cancer-Patients. *Blood* 1995; 85:1676-1678.
20. Thomas C, Wiesner C, Melchior SW, Thuroff JW. Anemia in the critically ill patient: monitoring of erythropoietin therapy. *Bj International* 2006; 97:1161-1164.
21. San Miguel JF, Garcia Sanz R. Recombinant human erythropoietin in the anaemia of multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *Medical Oncology*. 1998; Suppl 1:S29-34.
22. Biggs JC, Downs K, Worthington R, Atkinson K, Dodds A. A Prospective Double-Blind Trial to Evaluate the Effect of Human Recombinant Erythropoietin (Rhu Epo) in Patients Undergoing Matched Allogeneic Bone-Marrow Transplantation (Allo Bmt). *Experimental Hematology* 1993; 21:1172.
23. Klaesson S, Ringden O, Ljungman P, Lonnqvist B, Wennberg L. Reduced Blood-Transfusions Requirements After Allogeneic Bone-Marrow Transplantation - Results of A Randomized, Double-Blind-Study with High-Dose Erythropoietin. *Bone Marrow Transplantation* 1994; 13:397-402.
24. Bergstrom J. New Aspects of Erythropoietin Treatment. *Journal of Internal Medicine* 1993; 233:445-462.
25. Katodrittou E, Speletas M, Zervas K, Kapetanos D, Georgiou E, Christoforidou A et al. Evaluation of hypochromic erythrocytes in combination with sTfr-F index for predicting response to r-HuEPO in anemic patients with multiple myeloma. *Laboratory Hematology*. 2006;12:47-54.

Armellini A, García Marcos MA,
Martín JS, et al

Optimización del uso de Agentes estimulantes
del Receptor de la Eritropoyetina

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

Metabolic gene polymorphisms and lung cancer risk

Domínguez-García A.¹, Fernández-Rubio A.¹, López-Cima M. F.¹, González-Arriaga P.¹, García-Castro L.¹, Pascual T.², G. Marrón M², Puente X. S.³, Tardón A.¹

¹ Departamento de Medicina, Unidad de Epidemiología Molecular del Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias.

² Servicio de Neumología del Hospital de Cabueñas de Gijón (Asturias)

³ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular del Instituto Universitario de Oncología de Asturias

RESUMEN

Objetivo: Comprobar que polimorfismos implicados en genes del metabolismo de carcinógenos pueden contribuir a la susceptibilidad individual a desarrollar cáncer de pulmón. Hemos estudiado la relación entre dos polimorfismos en estos genes (CYP1A1 Mspl y GSTP1 Ile105Val) y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón.

Diseño: Estudio caso control de base hospitalaria que incluye 406 casos incidentes de cáncer de pulmón y 436 controles aparentados por edad, género y área geográfica. Los genotipos fueron determinados por PCR-RFLP y los resultados fueron analizados usando un método de regresión logística.

Resultados: Encontramos asociación entre el polimorfismo CYP1A1Mspl y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón mientras que no encontramos asociación al estudiar el polimorfismo GSTP1 Ile105Val. El valor de la OR ajustada obtenida en el caso del CYP1A1Mspl es de 1,47; 95% CI = 0,35-6,14, lo cual indica que aumenta el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón aunque nuestros datos no son estadísticamente significativos. Por otra parte, parece que el genotipo heterocigoto para el polimorfismo GSTP1 Ile105Val tiene un papel protector frente al desarrollo del cáncer de pulmón en mujeres (OR ajustada= 0,22; CI = 0,09-0,56).

Conclusión: Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que polimorfismos en genes implicados en el metabolismo de carcinógenos y sus combinaciones pueden influir en la etiología del cáncer de pulmón.

Palabras clave:

Cáncer de pulmón, polimorfismo, citocromo P450 1A1, glutatión transferasa P1, genes de metabolización.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 292-304

ABSTRACT

Purpose: Polymorphisms in genes involved in carcinogens metabolism might contribute to the individual susceptibility to develop different types of cancer. We have investigated the relationship between polymorphisms in two of these genes, CYP1A1 (Mspl) and GSTP1 (Ile105Val) and the risk of developing lung cancer.

Experimental Design: A hospital-based case-control study was designed including 406 lung cancer patients and 436 control subjects matched on age, gender, and geographical area. Genotypes were determined by PCR-RFLP and the results were analyzed using unconditional logistic regression, adjusting for relevant confounding variables.

Results: A slight association was found for CYP1A1 Mspl polymorphism, while no association was observed for GSTP1 Ile105Val polymorphism. In this regard, the CYP1A1Mspl genotype was associated with an increased risk of lung cancer (adjusted OR=1,47; 95% CI = 0,35-6,14) but there was no statistical significance. It seems that heterozygous GSTP1 variant protects to develop lung cancer in women (adjusted OR= 0,22; CI = 0,09-0,56). Furthermore, an interaction between CYP1A1 Mspl and GSTP1 Ile105Val was observed, resulting in a further increase in the risk of developing lung cancer.

Conclusions: These results support the hypothesis that polymorphisms and their combined effects in metabolic genes might play a role in lung cancer etiology.

Key words:

Lung cancer, polymorphism, cytochrome P450 1A1, glutation transferase P1, metabolic gene.

Correspondencia:

A. Domínguez-García. Instituto Universitario de Oncología de Asturias
Unidad de Epidemiología Molecular del Cáncer. Laboratorio 2.19
Fernando Bonner s/n. 33006 Campus del Cristo. Oviedo
dg.ana@hotmail.com

Beca de Investigación de FUNDACIÓN MAPFRE, 2006.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

INTRODUCCIÓN

Debido a su alto grado de incidencia y a su elevada tasa de mortalidad, el cáncer de pulmón constituye una de las patologías que mayor interés ha suscitado en las últimas décadas, siendo el cáncer más común en el mundo desde 1985. En 2002, hubo 1,35 millones de casos nuevos, lo que representa el 12,4% de todos los nuevos casos de cáncer y constituyó también la causa más común de muerte por cáncer, con 1,18 millones de muertes, el 17,6% del total de muertes en el mundo. Casi la mitad de los casos (49.9%) tienen lugar en los países industrializados, dónde representa la causa más frecuente de mortalidad por cáncer. Se estima que de las 6,7 millones de muertes causadas por cáncer en el mundo en el año 2002, el 20% serían atribuibles al cáncer de pulmón (Parkin y col., 2005). En España, el cáncer de pulmón constituye la segunda causa de fallecimientos por cáncer en hombres. Además, el cáncer de pulmón es una de las neoplasias con peor pronóstico, ya que menos del 15% de los pacientes logran sobrevivir cinco años tras el diagnóstico (Berrino y col., 1998; Brabender y col., 2002).

A pesar de que el tabaco es la principal causa de cáncer de pulmón, sólo entre un 10-15% de los fumadores desarrollan cáncer, lo cual indica que pueden existir diferencias interindividuales debidas a la edad, sexo, etnia, factores nutricionales, hormonales e inmunológicos. Del mismo modo influye la susceptibilidad que en parte resulta de diversos factores genéticos del individuo, como son las diferencias en el metabolismo de carcinógenos, la capacidad de reparar el ADN dañado, y la expresión de protooncogenes, genes supresores de tumores y otros genes implicados en el ciclo celular (Bartsch y Hietanen., 1996; Perera y col., 1997).

El estudio de polimorfismos, que pueden alterar la expresión, estructura o actividad de estos genes puede ayudar al entendimiento de la distribución del riesgo de exposición en la población general, estimar el riesgo en sub-poblaciones e incluso predecir el riesgo individual a la exposición (Miller y col., 2001).

En la respuesta del organismo a carcinógenos, se producen dos tipos de reacciones:

Reacciones de fase I: biotransformaciones que aumentan la hidrosolubilidad del compuesto mediante la introducción de grupos polares, como hidroxilaciones que capacitan al compuesto para la fase siguiente. Catalizadas por oxidoreductasas entre las que se encuentran las pertenecientes a la familia del citocromo P450.

Reacciones de fase II: reacciones de conjugación en las que los compuestos con los grupos polares aludidos se unen a reactivos endógenos, como el glutatión, para formar derivados más hidrosolubles fácilmente eliminados. Catalizadas por las glutatión S-transferasas.

Si bien las enzimas de la familia del citocromo P450 aumentan la polaridad de los compuestos potencialmente tóxicos con el fin de hacerlos más fácilmente eliminables, estas mismas enzimas de hidroxilación activan algunos compuestos carcinogénicos del tabaco (nitrosaminas, benzopirenos), haciéndolos más reactivos y confiriéndoles capacidad mutagénica. Los carcinógenos activados reaccionan con el ADN formando aductos que si no se reparan convenientemente, pueden llevar a que, durante la replicación, se introduzcan errores en la copia, dando lugar a mutaciones, que en último término pueden dar lugar al desarrollo de un cáncer.

La existencia de diferentes polimorfismos en estas enzimas detoxificadoras de xenobióticos explicaría en parte las diferentes susceptibilidades individuales a la acción de los carcinógenos (Hengstler y col., 1998; Ladero y col., 1998), por tanto es razonable pensar que la acumulación de daño genético en la célula va a depender del balance entre la exposición a carcinógenos del humo del tabaco y el funcionamiento de los sistemas de activación/desactivación intracelulares.

OBJETIVOS

Objetivo general: determinar la importancia de los polimorfismos genéticos de las enzimas que participan en el metabolismo de carcinógenos en el riesgo de padecer cáncer de pulmón, controlando todos los posibles factores de confusión (medioambientales, ocupacionales y de estilos de vida) y evaluando la interacción entre ellos.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

Objetivos específicos:

- Determinar en 406 casos de cáncer de pulmón y 436 controles emparejados:
 - El genotipo para el polimorfismo MspI en el gen de activación de carcinógenos CYP1A1 y su asociación con el riesgo de padecer cáncer de pulmón.
 - El genotipo para el polimorfismo Ile105Val en el gen de detoxificación de carcinógenos GSTP1 y su asociación con el riesgo de padecer cáncer de pulmón.
- Evaluar el papel de los polimorfismos genéticos de estas enzimas implicadas en el metabolismo de carcinógenos del tabaco en la predisposición individual a padecer cáncer de pulmón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos de estudio: Un total de 406 casos incidentes de cáncer de pulmón con edades comprendidas entre los 20 y los 84 años, y residentes (al menos 6 meses al año) en las áreas de influencia de dos hospitales de Asturias (Hospital de Cabueñas de Gijón y Hospital de San Agustín de Avilés) fueron recogidos desde Octubre del 2000 a Octubre del 2006 en la Unidad de Epidemiología Molecular del Instituto Universitario de Oncología de Asturias.

A cada caso se le asigna un control apareado por hospital, género, edad (± 5 años) y residencia durante al menos los 6 últimos meses, en el área sanitaria de referencia del hospital donde se diagnosticó el caso. La selección de los controles se lleva a cabo entre pacientes que ingresan en el mismo hospital de cada caso para cirugía dentro de un amplio espectro de condiciones agudas no relacionadas con ningún factor de riesgo conocido de cáncer de pulmón (*International Classification of Diseases*).

Una vez solicitado el consentimiento informado, un entrevistador entrenado realiza mediante entrevista personal con el caso o control un cuestionario estructurado e informatizado, preferentemente durante la primera estancia hospitalaria del sujeto, en el que se recogen datos sociodemográficos, antecedentes patológicos y familiares de cáncer, datos relativos a posibles factores de riesgo endógenos, medioambientales, de estilos de vi-

da (educación, clase social, tabaquismo activo e involuntario, ETS, dieta y ocupación).

Información sobre hábito tabáquico: dividimos a los sujetos de estudio en no fumadores y fumadores, los cuales a su vez se dividen en ex-fumadores (aquellos que dejaron de fumar hace más de un año) y fumadores actuales. En el grupo de no fumadores se incluyen a todos aquellos individuos que no han fumado nunca o que lo han hecho en un periodo inferior a 6 meses.

Genotipado: Se extrajo ADN de muestras de sangre o de enjuague bucal en su defecto utilizando técnicas de Biología Molecular previamente descritas en la bibliografía (Miller y col., 1988). Para el control de calidad un 5% de las muestras fueron genotipadas de nuevo y los resultados fueron analizados independientemente por dos de los autores.

Para determinar ambos polimorfismos se utilizó la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) combinada con el análisis de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP).

La reacción de PCR se realizó en un volumen de 10 μ l contenido: 20 ng de ADN genómico, 10 pmol de cada oligonucleótido (en CYP1A1, directo 5'-TAGGAGTCTGTCTCATGCCT-3' y reverso 5'-CAGTGAAGAGGTGTAGC-CGCT-3' y en GSTP1, directo 5'-GTAGTTGCCAACGGTCAAG-3' y reverso 5'-AGCCACCTGAGGGGTAAG-3'), 0,25 mM de dNTPs y 0,5 unidades de Taq ADN polimerasa en tampón de PCR (1x).

Tras una primera desnaturación a 94 °C durante 5 minutos, se realizan:

En el caso del CYP1A1 40 ciclos: desnaturando a 94 °C 30 segundos, anillando a la temperatura de 60 °C 30 segundos, y extendiendo a 72 °C durante 30 segundos.

En el gen GSTP1 30 ciclos: desnaturizando a 94 °C 30 segundos, anillando a 61 °C 30 segundos, y extendiendo a 72 °C 30 segundos.

Para finalizar se incuba a 72 °C durante 7 minutos.

Polimorfismo CYP1A1 MspI

La determinación de este polimorfismo se basa en la aparición de un sitio de restricción para el enzima MspI debido a un cambio de una adenina por una guanina en la posición 6235 del gen.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

Así, la presencia de una sola banda de amplificación de 343 pb indica que el individuo tiene genotipo A/A, es decir corresponde al homocigoto silvestre, la presencia de tres bandas de 343, 207 y 136 pb indica que el individuo es heterocigoto (genotipo A/G), y la presencia de dos bandas de 207 y 136 pb indica que el individuo es homocigoto polimórfico (genotipo G/G) (Figura 1).

Polimorfismo GSTP1 Ile105Val

La determinación de este polimorfismo se basa en la aparición de un nuevo sitio de restricción para el enzima Alw26I, debido a una transición de una adenina por una guanina, generándose un cambio del residuo isoleucina por el residuo valina en la posición 105 del exón 5 del gen.

La digestión del producto de PCR con este enzima permite diferenciar el alelo 105Ile, es decir el homocigoto silvestre de genotipo Ile/Ile, que genera dos bandas de amplificación (328 y 105pb), del alelo 105Val (homocigoto polimórfico de genotipo Val/Val) que presenta tres bandas (222, 106, 105 pb). La aparición de cuatro bandas en la misma amplificación (328, 222, 106, 105) indica que el individuo es heterocigoto, con genotipo Ole/Val (Figura 2).

Análisis estadístico: Primero se comprueba que la población está en equilibrio Hardy-Weinberg y se describen los individuos en estudio mediante un test 2, incluyendo el estadístico de Mantel-Haenszel. Para la comparación de variables con-

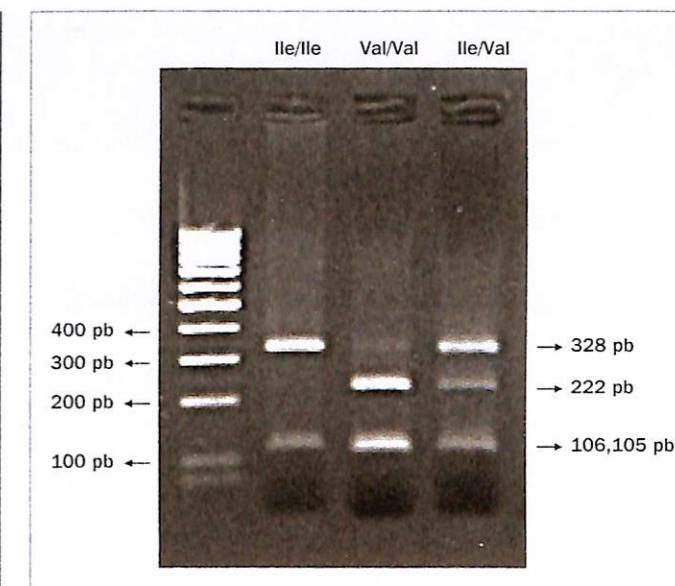


Fig. 1. Amplificaciones del polimorfismo CYP1A1 MspI.

tinuas entre distintos grupos de individuos se usan los test de Lilliefors, Levene y el test t para comprobar normalidad, homocedasticidad e igualdad de medias en caso de normalidad, sino se usan los test no paramétricos de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis según corresponda. Para el análisis multivariante usamos el método de regresión logística no condicionada. Con los test LR y Wald se estudian que variables entran o salen del modelo, valorando confusión y estudiando si existen términos de interacción entre los distintos factores. También se calculan las estimaciones puntuales e intervalos de confianza de las ORs para las distintas variables y se estudia como de efectivo es el modelo encontrado en cuanto a la descripción de la variable de salida de estudio con el test Hosmer-Lemeshow. También se usan técnicas para estudios emparejados: razón de odds de Mantel-Haenszel, test de Mc Nemar y la regresión logística condicionada. Se utiliza principalmente el programa estadístico STATA 8.

RESULTADOS

El análisis incluye 406 casos y 436 controles correspondientes a población caucásica de Asturias. La distribución por edad, género, hábito tabáquico, antecedentes familiares de cáncer, tipo histológico y estadio clínico se resumen en la Tabla 1.

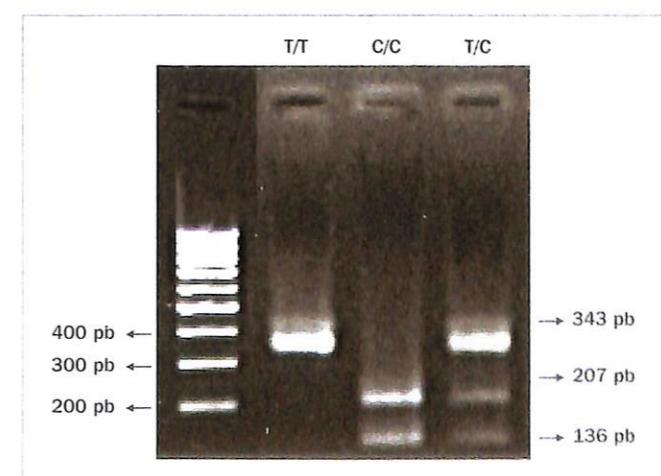


Fig. 2. Amplificaciones del polimorfismo GSTP1 Ile105Val.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

TABLA 1. Distribución de los casos de cáncer de pulmón y controles del estudio

Variable	Casos (n = 406)	Controles (n= 436)	P ^a	OR cruda [IC 95 %]
	n (%)	n (%)		
Género				
Hombre	359 (88,4)	374 (85,8)		
Mujer	47 (11,6)	62 (14,2)	0,253	
Edad, media (Desv. típ.)	64,05 (11,4)	63,25 (11,7)	0,359	
Consumo de tabaco				
No fumador	24 (6,0)	116 (27,4)		Referencia
Fumador	377 (94,0)	307 (72,6)	<0,001	5,77 [3,56-9,35]
Ex-fumadores	173 (43,1)	185 (43,7)		4,52 [2,72-7,51]
Fumador actual	204 (50,9)	122 (28,9)	<0,001	8,08 [4,69-13,92]
Antecedentes familiares de cáncer				
Ninguno	203 (54,0)	264 (63,3)		Referencia
Cáncer de pulmón	51 (13,6)	27 (6,5)		2,46 [1,48-4,08]
Otros cánceres	122 (32,4)	126 (30,2)	0,001	1,26 [0,92-1,72]
Tipo Histológico				
Epidermoide	165 (40,6)			
Adenocarcinoma	119 (29,3)			
Microcítico	64 (15,8)			
Células grandes	33 (8,1)			
Indiferenciado	10 (2,5)			
Otros	7 (1,7)			
Diagnóstico clínico	2 (0,5)			
Desconocido	6 (1,5)			
Estadio clínico				
Estadio I	106 (26,8)			
Estadio II	21 (5,3)			
Estadio III	97 (24,6)			
Estadio IV	114 (28,9)			
Desconocido	57 (14,4)			

^a Test C2 bilateral y test de Mann-Whitney según corresponda.

Se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles en cuanto a distribución de edades y sexos.

Observamos que los casos presentan una prevalencia mayor de fumadores (94,0%) comparada con los controles (72,6%). Así mismo, nuestro estudio indica que el tabaquismo en Asturias multiplica por 4 el riesgo de cáncer de pulmón en ex-fumadores (OR = 4,52; 95% IC = 2,72-7,51)

y por 8 en fumadores actuales (OR = 8,08; 95% IC = 4,69-13,92). Los porcentajes de ex-fumadores son similares en casos y controles (43,1 y 43,7% respectivamente), pero el 50,9% de los casos fuman actualmente frente al 28,9% de los controles. Las diferencias son estadísticamente significativas ($p<0,001$).

Al estudiar los antecedentes familiares de cáncer observamos que la existencia de antecedentes

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

TABLA 2. Análisis del polimorfismo CYP1A1 MspI y el riesgo de cáncer de pulmón

Genotipo CYP1A1 MspI	Casos (n=406) n (%)	Controles (n= 436) n (%)	OR cruda [IC 95 %]	OR ajustada ^a [IC 95 %]
T/T	309 (76,1)	342 (78,5)	Referencia	Referencia
T/C	92 (22,7)	90 (20,6)	1,13 [0,81-1,57]	1,13 [0,81-1,61]
C/C	5 (1,2)	4 (0,9)	1,38 [0,37-5,20]	1,47 [0,35-6,14]
Frecuencia alelo C	0,129	0,112		

Test C2 bilateral.

^a ajustada por edad, género y hábito tabáquico (no fumador, fumador actual y exfumador).

de cáncer de pulmón en un familiar directo se asocia con un mayor riesgo de padecer cáncer de pulmón (OR = 2,46; 95% IC = 1,48-4,08).

En relación al tipo histológico los más frecuentes en la población de estudio fueron el carcinoma epidermoide y el adenocarcinoma.

Genotipo CYP1A1 MspI:

La distribución del genotipo CYP1A1 MspI para casos y controles se muestra en la Tabla 2.

La distribución de los genotipos en la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0,283$; $p=0,469$). La frecuencia del alelo C es un 12,9% en los casos y 11,2% en los controles.

Al analizar la asociación entre los genotipos del gen CYP1A1 para el polimorfismo MspI vemos que los individuos homocigotos para el alelo C presentan un mayor riesgo a desarrollar cáncer de pulmón, aunque la asociación no es estadísticamente significativa (OR = 1,38; IC 95% = 0,37-5,20). Al ajustar por edad, género y hábito tabáquico la OR es 1,47 (IC 95% = 0,35-6,14), lo cual indica que la presencia en un individuo de este polimorfismo incrementa su riesgo a desarrollar cáncer de pulmón.

En el análisis estratificado de los datos que se recoge en la Tabla 3, tenemos que tener en cuenta que la proporción de individuos homocigotos polimórficos es muy pequeña lo que probablemente hace tambalear conclusión alguna sobre todo en relación con el genotipo CC, obteniéndose intervalos de confianza muy elevados.

Al estratificar por edad, vemos que en el grupo de 55-69 años no hay asociación entre genotipo

C/C y aumento de riesgo (OR ajustada = 0,83; IC 95% = 0,05-14,8), mientras que en los otros dos grupos se asocia con un aumento de riesgo aunque no estadísticamente significativo, y mucho más acusado en el caso de mayores de 70 años (OR ajustada >55años = 1,26; IC 95% = 0,14-11,2) y (OR ajustada mayores de 70 = 2,30; IC 95% = 0,19-28,5).

En la estratificación por hábito tabáquico, observamos que en todos los grupos hay un aumento de riesgo aunque no estadísticamente significativo. En el caso de no fumadores, el aumento del riesgo a desarrollar cáncer de pulmón teniendo el genotipo C/C es muy elevado, aunque no estadísticamente significativo (OR ajustada = 6,29; IC 95% = 0,23-170,83). Además, tenemos que tener en cuenta que sólo tenemos un caso con genotipo polimórfico y un control por lo tanto sería conveniente seguir analizando individuos para tener un tamaño muestral mayor y poder establecer un valor de la OR más fiable. En el grupo de fumadores obtenemos un valor de la OR ajustada de 1,21 (IC 95% = 0,27-5,46) y dentro de este grupo si sólo consideramos los fumadores actuales obtenemos un riesgo más elevado de desarrollar cáncer de pulmón (OR ajustada = 2,71; IC 95% = 0,30-24,82).

Al estratificar por antecedentes familiares de cáncer, vemos que existe un ligero aumento de riesgo no estadísticamente significativo para aquellos individuos sin antecedentes familiares de cáncer y con genotipo homocigoto C/C (OR ajustada = 1,22; IC 95% = 0,16-9,28), mientras que en aquellos individuos con antecedentes familiares de cáncer hemos obtenido el valor de la OR (1,60 IC 95% 0,20-12,92) que aunque tampoco es estadísticamente significativo es más elevado.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

Variables	Casos			Controles			OR ajustada [IC 95 %] ^a	Test ^b de tendencia P
	n/T	T/C	C/C	T/T	T/C	C/C		
Genero								
Mujer ^c	38 (80,9%)	8 (17,0%)	1 (2,1%)	51 (82,3%)	11 (17,7%)	0 (0,0%)	0,98 [0,36-2,67]	
Hombre	271 (75,5%)	84 (23,4%)	4 (1,1%)	291 (77,8%)	79 (21,1%)	4 (1,1%)	1,16 [0,79-1,69]	0,99 [0,22-4,46] 0,499
Edad (años)								
55	75 (78,9%)	18 (19,0%)	2 (2,1%)	89 (77,4%)	24 (20,9%)	2 (1,7%)	1,06 [0,49-2,12] 1,26 [0,14-11,12]	0,888
55-69	120 (75,5%)	38 (23,9%)	1 (0,6%)	131 (82,4%)	27 (17,0%)	1 (0,6%)	1,56 [0,85-2,88] 0,83 [0,05-14,8]	0,203
≥ 70	114 (75,0%)	36 (23,7%)	2 (1,3%)	122 (75,3%)	39 (24,1%)	1 (0,6%)	0,88 [0,50-1,52] 2,30 [0,19-28,5]	0,866
Consumo de tabaco								
No fumador	18 (75,0%)	5 (20,8%)	1 (4,2%)	93 (80,2%)	22 (19,0%)	1 (0,8%)	1,00 1,34 [0,42-4,30] 6,29 [0,23-170,83]	0,324
Fumador	291 (76,2%)	87 (22,8%)	4 (1,0%)	249 (77,8%)	68 (21,3%)	3 (0,9%)	1,00 1,09 [0,76-1,56] 1,21 [0,27-5,46]	0,619
Ex-fumador	130 (75,1%)	43 (24,9%)	0 (0,0%)	139 (75,1%)	44 (23,8%)	2 (1,1%)	1,00 1,03 [0,63-1,68]	0,757
Fumador actual	159 (77,9%)	41 (20,1%)	4 (2,0%)	100 (82,0%)	21 (17,2%)	1 (0,8%)	1,00 1,22 [0,69-2,18] 2,71 [0,30-24,82]	0,313
Antecedentes familiares de cáncer								
No	158 (77,8%)	43 (21,2%)	2 (1,0%)	209 (79,2%)	53 (20,1%)	2 (0,7%)	1,00 1,01 [0,63-1,63] 1,22 [0,16-9,28]	0,917
Si	141 (74,6%)	45 (23,8%)	3 (1,6%)	128 (77,1%)	36 (21,7%)	2 (1,2%)	1,00 1,30 [0,75-2,27] 1,60 [0,20-12,92]	0,310
Tipos histológicos^d								
Epidérmico	121 (73,3%)	41 (24,9%)	3 (1,8%)				1,00 1,20 [0,76-1,90] 1,92 [0,38-9,78]	0,308
Adenocarcinoma	96 (80,7%)	22 (18,5%)	1 (0,8%)	342 (78,5%)	90 (20,6%)	4 (0,9%)	1,00 0,92 [0,54-1,57] 1,02 [0,11-9,81]	0,779
Microcítico	49 (76,6%)	14 (21,9%)	1 (1,5%)				1,00 1,14 [0,59-2,19] 2,46 [0,25-24,49]	0,525

^{a,b}: Ajustadas por edad, género y hábito tabáquico en un modelo de regresión logística para cada estrato.

^{c,d}: No hay suficiente muestra

^e: Se consideran todos los controles.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

TABLA 4. Análisis del polimorfismo GSTP1 Ile105Val y el riesgo de cáncer de pulmón

Genotipo GSTP1	Casos (n=406) n (%)	Controles (n= 436) n (%)	OR cruda [IC 95 %]	OR ajustada ^b [IC 95 %]
Ile/Ile	172 (42,4)	168 (38,5)	Referencia	Referencia
Ile/Val	180 (44,3)	221 (50,7)	0,80 [0,60-1,06]	0,83 [0,60-1,13]
Val/Val	54 (13,3)	47 (10,8)	1,12 [0,72-1,75]	1,07 [0,67-1,73]
Frecuencia alelo "Val"	0,355	0,361		

^a Test C2 bilateral.

^b Ajustada por edad, género y hábito tabáquico (no fumador, fumador actual y exfumador).

Finalmente, al estratificar por tipo histológico, el genotipo C/C no se asocia con un aumento de riesgo a desarrollar adenocarcinoma OR ajustada = 1,02; IC 95% = 0,11-9,81), mientras que si se asocia con un aumento de riesgo a desarrollar carcinoma epidermoide y microcítico pero en ninguno de los dos casos el aumento de riesgo es estadísticamente significativo (OR ajustada = 1,92; IC 95% = 0,38-9,78) y (OR ajustada = 2,46; IC 95% = 0,25-24,49) respectivamente.

Genotipo GSTP1 Ile105Val

La distribución del genotipo GSTP1 para casos y controles se muestra en la Tabla 4. La distribución de los genotipos en la población que hemos analizado no está en equilibrio Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 2,138$; $p = 0,040$).

Se observa que la frecuencia del alelo Val es de un 35,5% en los casos y 36,1% en los controles por lo que no existe asociación entre este polimorfismo y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón (OR= 1,12; IC 95% = 0,72-1,75). Al ajustar por edad, género y hábito tabáquico la OR es 1,07 (IC 95% = 0,67-1,73).

Cabe destacar que el genotipo Ile/Val podría tener un efecto protector frente al desarrollo de cáncer de pulmón, casi estadísticamente significativo (OR= 0,80; IC 95% = 0,60-1,06) y ajustando por edad, género y hábito tabáquico OR= 0,83 IC 95% = 0,60-1,13).

Los datos correspondientes a la estratificación aparecen en la tabla 5.

Al estratificar por género, cabe destacar que en mujeres el genotipo heterocigoto Ile/Val se asocia con una disminución de riesgo a desarrollar cán-

cer de pulmón (OR ajustada = 0,22; IC 95% = 0,09-0,58).

En la estratificación por edades, el genotipo Val/Val aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón en los menores de 55 años aunque de forma no estadísticamente significativa (OR ajustada= 1,40 IC 95% = 0,51-3,79), mientras que parece que el genotipo heterocigoto protege en aquellos de edades comprendidas entre 55 y 69 años (OR ajustada = 0,74 IC 95% = 0,44-1,24).

La estratificación por hábito tabáquico revela menor valor de la OR para los no fumadores y dentro de los fumadores para los exfumadores. Se observa además que hay un aumento del riesgo a desarrollar cáncer de pulmón, aunque no estadísticamente significativo en los fumadores actuales (OR ajustada = 1,69 IC 95% = 0,75-3,80). Parece además que el genotipo heterocigoto Ile/Val protege frente al desarrollo de cáncer de pulmón en no fumadores (OR ajustada = 0,49 IC 95% = 0,18-1,34).

Al estratificar por antecedentes familiares de cáncer es importante destacar que los pacientes con antecedentes familiares de cáncer de pulmón y con genotipo Ile/Val presentan un gran aumento de riesgo, estadísticamente significativo, de desarrollar cáncer de pulmón (OR ajustada= 4,52 IC 95% = 1,13-18,09), mientras que aquellos con genotipo Val/Val también presentan un aumento de riesgo, menor pero no estadísticamente significativo(OR ajustada = 1,70 IC 95% = 0,31-9,38).

Se observa un ligero aumento del riesgo en aquellos individuos con antecedentes familiares de otros cánceres distintos al de pulmón con genotipo Val/Val (OR ajustada = 1,34 IC 95% =

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

Variables	Casos		Controles		OR ajustada [IC 95 %] ^a		Test ^b de tendencia P
	Ile/Ile	Val/Val	Ile/Ile	Val/Val	Ile/Val	Val/Val	
Género							
Mujer	25 (53,2%)	12 (25,5%)	10 (21,3%)	19 (30,7%)	38 (61,3%)	5 (8,0%)	1,00 0,22 [0,09-0,58] 0,238
Hombre	147 (41,0%)	168 (46,8%)	44 (12,2%)	149 (39,8%)	183 (48,9%)	42 (11,3%)	1,00 0,97 [0,70-1,36] 0,874
Edad (años)							
55	39 (41,1%)	44 (46,3%)	12 (12,6%)	45 (39,1%)	60 (52,2%)	10 (8,7%)	1,00 0,93 [0,50-1,72] 1,40 [0,51-3,79] 0,706
55-69	69 (43,4%)	69 (43,4%)	21 (13,2%)	64 (40,2%)	79 (49,7%)	16 (10,1%)	1,00 0,74 [0,44-1,24] 0,720
≥ 70	64 (42,1%)	67 (44,1%)	21 (13,8%)	59 (36,4%)	82 (50,6%)	21 (13,0%)	1,00 0,83 [0,50-1,39] 0,584
Consumo de tabaco							
No fumador	11 (45,8%)	10 (41,7%)	3 (12,5%)	38 (32,8%)	67 (57,7%)	11 (9,5%)	1,00 0,49 [0,18-1,34] 1,03 [0,22-4,93] 0,508
Fumador	161 (42,1%)	170 (44,5%)	51 (13,4%)	130 (40,6%)	154 (48,1%)	36 (11,3%)	1,00 0,90 [0,65-1,24] 1,13 [0,69-1,83] 0,929
Ex-fumador	80 (46,2%)	71 (41,0%)	22 (12,7%)	77 (41,6%)	83 (44,9%)	25 (13,5%)	1,00 0,83 [0,53-1,30] 0,83 [0,43-1,60] 0,432
Fumador actual	77 (37,8%)	99 (48,5%)	28 (13,7%)	47 (38,5%)	65 (53,3%)	10 (8,2%)	1,00 0,93 [0,57-1,50] 1,69 [0,75-3,80] 0,416
Antecedentes familiares de cáncer							
Ninguno	87 (42,9%)	90 (44,3%)	26 (12,8%)	102 (38,6%)	131 (49,6%)	31 (11,8%)	1,00 0,82 [0,54-1,25] 0,99 [0,53-1,85] 0,677
Cáncer de pulmón	19 (37,2%)	24 (47,1%)	8 (15,7%)	13 (48,2%)	9 (33,3%)	5 (18,5%)	1,00 4,52 [1,13-18,09] 1,70 [0,31-9,38] 0,229
Otros cánceres	54 (44,3%)	51 (41,8%)	17 (37,3%)	47 (37,3%)	70 (51,6%)	9 (7,1%)	1,00 0,59 [0,33-1,05] 1,34 [0,51-3,50] 0,663
Tipos histológicos ^c							
Epidérmico	62 (37,6%)	82 (49,7%)	21 (12,7%)			1,00 1,16 [0,76-1,76] 1,26 [0,67-2,37] 0,396	
Adenocarcinoma	59 (49,6%)	50 (42,0%)	10 (8,4%)	168 (38,5%)	221 (50,7%)	47 (10,8%)	1,00 0,65 [0,42-1,01] 0,52 [0,24-1,17] 0,032
Microcítico	28 (43,8%)	26 (40,6%)	10 (15,6%)			1,00 0,69 [0,38-1,24] 1,31 [0,58-2,96] 0,975	

a,b) Ajustadas por edad, género y hábito tabáquico (fumador actual, no fumador y exfumador) en un modelo de regresión logística para cada estrato.

d) Se consideran todos los controles.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

0,51-3,50) mientras que observamos un efecto protector casi estadísticamente significativo del genotipo heterocigoto (OR ajustada = 0,59 IC 95% = 0,33-1,05).

Por último, al estratificar por tipo histológico encontramos que el genotipo homocigoto Val/Val parece tener un efecto protector no estadísticamente significativo frente al desarrollo de adenocarcinoma (OR ajustada = 0,52 IC 95% = 0,24-1,17). Además, parece aumentar ligeramente el riesgo a desarrollar los tipos histológicos epidermoide (OR ajustada = 1,26 IC 95% = 0,67-2,37) y microcítico (OR ajustada = 1,31 IC 95% = 0,58-2,96), sin embargo el aumento o disminución de riesgo no es estadísticamente significativo en ningún caso.

DISCUSIÓN

En este trabajo hemos analizado dos polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y su asociación con el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón en la población caucásica asturiana.

Nuestros resultados sugieren que el polimorfismo CYP1A1 MspI aumenta el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón en la población asturiana, de forma que los individuos homocigotos para el alelo C presentan un mayor riesgo a desarrollar cáncer de pulmón que los individuos con genotipo homocigoto T/T (OR = 1,47 IC 95% = 0,35-6,14), aunque este riesgo no es estadísticamente significativo. Es importante tener en cuenta que nuestro tamaño de muestra no es suficiente para encontrar riesgos bajos de forma estadísticamente significativos. Si se aumentara el número a más de 2000 podríamos detectar estos riesgos pequeños, con suficiente poder estadístico (Wang y col., 2005).

Nuestro resultado concuerda con otros estudios llevados a cabo para este gen. Así el genotipo C/C se ha asociado con un aumento de riesgo a padecer cáncer de pulmón (Demir y col., 2005) (OR = 1,24 IC 95% = 0,36-4,32); (Xu y col., 1996) (OR = 2,08 IC 95% = 1,15-3,73). También en un trabajo en el que se incluyen 11 estudios y un total de 1950 casos y 2617 controles encuentra asociación entre el polimorfismo CYP1A1 MspI y el riesgo a desarrollar cáncer

de pulmón (OR = 1,54 IC 95% = 0,97-1,46) (Le Marchand y col., 2003).

Al estratificar por género no pudimos calcular el valor de la OR en mujeres, sin embargo en otros estudios realizados encuentran asociación entre genotipo polimórfico y aumento de riesgo a padecer cáncer de pulmón en mujeres (OR = 1,7, IC 95% = 0,9-1,33) (Daniel P. k. Ng y col., 2005).

Obtenemos que hay una relación no estadísticamente significativa entre el polimorfismo y el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón en individuos mayores de 70 años, en fumadores actuales y favoreciendo sobre todo la forma de presentación microcítica y epidermoide.

Al estratificar por hábito tabáquico obtenemos un valor de la OR muy elevado en no fumadores (OR = 6,29 IC 95% = 0,23-170,83) aunque no estadísticamente significativo, además con un intervalo de confianza muy elevado, debido a la baja frecuencia de individuos homocigotos polimórficos. Sin embargo, otros estudios muestran resultados similares y sugieren que en algunas variantes genéticas, como podría ser el caso del CYP1A1 C/C, el efecto del gen es mayor a bajas concentraciones del carcinógeno (modelo dosis-respuesta inverso), así los no fumadores estarían expuestos a bajas concentraciones de carcinógenos del tabaco (fumador pasivo) y por tanto el efecto del gen sería muy elevado, aumentando considerablemente el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón. Nuestro resultado es similar a los obtenidos anteriormente por otros grupos (Taioli y col., 2003; Taioli y col., 1998; Vineis y col., 2000).

El segundo gen estudiado, GSTP1, no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg en nuestra población, por lo tanto no podemos asegurar los cuatro puntos que se cumplen en caso de equilibrio.

Según nuestros resultados, el polimorfismo GSTP1 Ile/Val podría disminuir el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón de forma casi estadísticamente significativa en aquellos individuos con genotipo Ile/Val (OR cruda = 0,80 IC 95% = 0,60-1,06, OR ajustada = 0,83 IC 95% = 0,60-1,13).

No encontramos asociación del genotipo homocigoto Val/Val con el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón. Nuestros resultados coinciden con otros estudios realizados anteriormente: (OR = 1,03; IC

Domínguez-García A., Fernández- Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

TABLA 6. Análisis combinado CYP1A1 MspI/ GSTP1Ile105Val

CYP1A1MspI/GSTP1	Casos(n=406) n(%)	Controles(n=436) n(%)	OR cruda [IC 95%]	OR ajustada [IC 95%] ^a
T/T+Ile/Ile	132(32,51%)	133(30,50%)	Referencia	Referencia
T/T+Ile/Val	133(32,76%)	171(39,22%)	0,78[0,56-1,09]	0,81[0,57-1,16]
T/T+Val/Val	44(10,84%)	38(8,72%)	1,17[0,71-1,92]	1,12[0,66-1,92]
T/C+Ile/Ile	37(9,11%)	33(7,57%)	1,13[0,67-1,92]	1,10[0,62-1,94]
T/C+Ile/Val	45(11,08%)	49(11,24%)	0,93[0,58-1,48]	0,97[0,58-1,61]
T/C+Val/Val	10(2,46%)	8(1,83%)	1,26[0,48-3,30]	1,18[0,43-3,19]
C/C+Ile/Ile	3(0,74%)	2(0,46%)	1,51[0,25-9,23]	2,38[0,30-18,97]
C/C+Ile/Val	2(0,49%)	1(0,23%)	2,06[0,18-22,63]	1,44[0,13-16,46]
C/C+Val/Val	0(0,00%)	1(0,23%)		

Test C2 bilateral.

^a Ajustada por edad, género y hábito tabáquico (no fumador, fumador actual y exfumador)

95% = 0,76-1,39) (Schneider y col., 2004) (Saarikoski y col., 1998); (Cote y col., 2005).

En un meta-análisis realizado recientemente en el que se recogen los resultados de 130 estudios, analizando un total de 23,452 casos y 30,397 controles en población caucásica encuentran un valor de la OR = 1,04 IC 95% 0,99-1,09, resultado muy similar al que nosotros encontramos en población asturiana, indicando que no hay relación entre el polimorfismo y el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón (Ye y col; 2005).

No obstante, hay estudios en los que se encuentra un aumento de riesgo estadísticamente significativo en la población caucásica: (Stucker y col., 2002) (OR= 2,00 IC 95% 1-4,1), aumentando mucho más este riesgo en cáncer de tipo microcítico.

Al estratificar obtenemos que el genotipo heterocigoto protege frente al desarrollo de cáncer de pulmón en mujeres de forma estadísticamente significativa (OR= 0,22; IC 95% 0,09-0,56).

Nuestros resultados sugieren que aquellos individuos menores de 55 años con genotipo polimórfico tienen mayor predisposición a padecer cáncer de pulmón, coincidiendo con otros estudios (David P. Millar y col., 2002).

También encontramos asociación estadísticamente significativa entre el genotipo heterocigoto de los individuos con antecedentes familiares de cáncer de pulmón y el aumento de riesgo a desa-

rrollar cáncer de pulmón y encontramos asociación aunque menor y no estadísticamente significativa cuando analizamos el genotipo polimórfico.

Encontramos que hay asociación aunque no estadísticamente significativa, entre el polimorfismo y el aumento de riesgo a padecer cáncer de pulmón de tipo microcítico (OR= 1,31; IC 95% 0,58-2,96), coincidiendo con otros estudios donde encuentran incluso una asociación mayor (OR = 6,60 IC 95% = 1,3-9,8) (Stucker y col., 2002).

No obstante, es importante destacar que en muchos estudios no se encuentra asociación entre el polimorfismo estudiado y el de riesgo de cáncer de pulmón. Sin embargo, al estudiarlo combinado con otros polimorfismos en otras GSTs que individualmente no alteran el riesgo, sí se encuentra asociación significativa. En un estudio realizado en Boston encuentran que individualmente el polimorfismo del gen GSTP1 no aumenta el riesgo a padecer cáncer de pulmón, mientras que combinado con un polimorfismo en el gen GSTM1 aumenta el riesgo de forma estadísticamente significativa (OR= 1,6 IC 95% 0,9-2,7) mientras que en menores de 55 años este riesgo es todavía más elevado (OR= 4,3 IC 95% = 1,4-11) (Miller y col., 2002).

Como comentamos anteriormente, puede decirse que el citocromo P450 tiene un mecanismo de acción antagonista ya que introduce grupos polares en la molécula del tóxico de tal manera que

Domínguez-García A., Fernández- Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

TABLA 7. Análisis combinado CYP1A1 MspI/GSTP1Ile105Val en carcinoma epidermoide y microcítico

CYP1A1MspI/GSTP1	Casos(n=229) n(%)	Controles(n=436) n(%)	OR cruda [IC 95%]	OR ajustada [IC 95%] ^a
T/T+Ile/Ile	70(30,57%)	133(30,50%)	Referencia	Referencia
T/T+Ile/Val	76(33,19%)	171(39,22%)	0,84[0,57-1,26]	0,89[0,59-1,37]
T/T+Val/Val	24(10,48%)	38(8,72%)	1,20[0,67-2,16]	1,25[0,67-2,35]
T/C+Ile/Ile	17(7,42%)	33(7,57%)	0,98[0,51-1,88]	0,86[0,42-1,78]
T/C+Ile/Val	31(13,54%)	49(11,24%)	1,20[0,70-2,05]	1,28[0,72-2,29]
T/C+Val/Val	7(3,06%)	8(1,83%)	1,66[0,58-4,80]	1,60[0,53-4,80]
C/C+Ile/Ile	3(1,31%)	2(0,46%)	2,85[0,46-17,64]	6,96[0,69-69,93]
C/C+Ile/Val	1(0,44%)	1(0,23%)	1,90[0,12-31,10]	1,31[0,08-21,85]
C/C+Val/Val	0(0,00%)	1(0,23%)		

Test C2 bilateral.

^a Ajustada por edad, género y hábito tabáquico (no fumador, fumador actual y exfumador)

en presencia de GSTs con función normal facilita la detoxificación del compuesto porque aumenta su hidrosolubilidad pero si la GST está alterada o mutada y no detoxifica correctamente hace que el compuesto sea más carcinogénico.

Hemos explorado la hipótesis anterior (Tabla 6) analizando la interacción CYP T/T (normal) con GST alterada (Val/Val) y el resultado que obtenemos es OR ajustada 1,12 (0,66-1,92) lo que indica que nuestra hipótesis puede ser correcta, y que la presencia de ambos genotipos en un mismo individuo aumenta el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón.

Si sólo tenemos en cuenta los tipos histológicos epidermoide y microcítico, que son los tipos de cáncer de pulmón más relacionados con el tabaco (Tabla 7), obtenemos en individuos con genotipo T/T para el gen CYP1A1 + Val/Val para el gen GSTP1 un valor de la OR ajustado de 1,25 (IC95% 0,67-2,35), lo cual indica que la combinación de ambos aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón microcítico y epidermoide en la población asturiana.

Nuestro agradeciendo a todos los pacientes que nos dedicaron su tiempo y han participado en este estudio.

Referencias bibliográficas

- Bartsch H, E Hietanen (1996). «The role of individual susceptibility in cancer burden related to environmental exposure». Environ Health Perspect 104 Suppl 3: 569-77.
- Berrino F, G Gatta, E Chessa, F Valente, R Capocaccia (1998). «The EUROCARE II study». Eur J Cancer 34: 2139-153.
- Brabender J, J Park, RV Lord, AH Holscher, KD Danenberg, PV Danenberg (2002). «Prognostic significance of cyclooxygenase 2 mRNA expression in non-small cell lung cancer». Ann Surg 235(3):440-3.
- Daniel P Ng, kar-Wai Tan, Bin Zhao, Adelihne Seow. CYP1A1 polymorphisms and risk of lung cancer in non-smoking chinese women: influence of environmental tobacco smoke exposure and GSTM1/T1 genetic variation. Cancer Causes and Control 2005; 16: 399-405.
- David P, Miller, Geoffrey Liu, Inmaculada De Vivo, Thomas J Lynch, John C Wain, Li Su, David C.Christiani. Combinations of the Variant Genotypes of GSTP1, GSTM1, and p53 Are Associated with an Increased Lung Cancer Risk. Cancer Research 2002; 62:2819-823.
- Demir A, S Altin, I Demir, V Koksal, U Cetincelik, I Dincer (2005). «The role of CYP1A1 MspI gene polymorphisms on lung cancer development in Turkey». Tuberk Toraks 53(1): 5-9.

Domínguez-García A., Fernández-Rubio A., López-Cima M. F., et al

Influencia de los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y riesgo de cáncer de pulmón

7. Hengstler JG, M Arand, ME Herrero, F Oesch (1998). «Polymorphisms of N-acetyltransferases, glutathione S-transferases, microsomal epoxide hydrolase and sulfotransferases: influence on cancer susceptibility». *Recent Results Cancer Res* 154: 47-85.
8. Ladero JM, JA García-Agundez, J Benítez (1998). «[Enzymatic polymorphisms and pulmonary cancer]». *Med Clin (Barc)* 111: 465-70.
9. Le Marchand L, C Guo, S Benhamou, C Bouchardy, I Cascorbi, ML Clapper, S Garte, A Haugen, M Ingelman-Sundberg, M Kihara, A Rannug, D Ryberg, I Stucker, H Sugimura, E Taioli (2003). «Pooled analyses of the CYP1A1 exon 7 polymorphism and lung cancer (United States)». *Cancer Causes Control* 14(4):339-46.
10. Miller DP, G Liu, I De Vivo, TJ Lynch, J C Wain, L Su, D C Christiani (2002). «Combinations of the variant genotypes of GSTP1, GSTM1, and p53 are associated with an increased lung cancer risk». *Cancer Res* 62: 2819-23.
11. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids Res* 1988; 16:1215.
12. Parkin DM, F Bray, J Ferlay, P Pisani (2005). «Global cancer statistics, 2002». *CA Cancer J Clin* 55(2): 74-108.
13. Perera FP (1997). «Environment and cancer: who are susceptible?». *Science* 278(5340):1068-73.
14. Saarikoski ST, A Voho, Reinikainen, S Anttila, A Karjalainen, C. Malaveille, H. Vainio, K. Husgafvel-Pursiainen y A. Hirvonen (1998). «Combined effect of polymorphic GST genes on individual susceptibility to lung cancer». *Int J Cancer* 77: 516-21.
15. Schneider J, U Bernges, M Philipp, HJ Woitowitz (2004). «GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking». *Cancer Lett* 208: 65-74.
16. Stucke I, A Hirvonen, I de Waziers, A Cabelguenne, K Mitränen, S Cenee, E Koum-Besson, D Hemon, P Beaune, MA Loriot (2002). «Genetic polymorphisms of glutathione S-transferases as modulators of lung cancer susceptibility». *Carcinogenesis* 23(9): 1475-81.
17. Stucker, H Sugimura, E Taioli (2003). «Pooled analysis of the CYP1A1 exon 7 polymorphism and lung cancer (United States)». *Cancer Causes Control* 14(4): 339-46.
18. Taioli E, Zocchetti C, Garte SJ. Models of interaction between metabolic genes and environmental exposure in cancer susceptibility. *Environ Health Persp* 1998; 106:67-70.
19. Taioli E, L Gaspari, S Benhamou, P Boffetta, J Brockmoller, D Butkiewicz, I Cascorbi, ML Clapper, Dolzan, A Haugen, A Hirvonen, K Husgafvel-Pursiainen, I Kalina, P Kremers, L Le Marchand, y col. (2003). «Polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and lung cancer below the age of 45 years». *Int J Epidemiol* 32(1): 60-3.
20. Vineis P, Kogevinas M, Simonato L, Brennan P, Boffetta P. Levelling-off of the risk of lung cancer and bladder cancer in heavy smokers: an analysis based on multicentric case-control studies and a metabolic interpretation. *Mut Research* 2000; 463:103-10.
21. Wan W.Y, BJ Barratt, DG Clayton, JA Todd (2005). «Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns». *Nat Rev Genet* 6(2): 109-18.
22. Xu X, KT Kelsey, JK Wiencke, JC Wain, DC Christiani (1996). «Cytochrome P450 CYP1A1. MspI polymorphism and lung cancer susceptibility». *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5(9): 687-92.
23. Ye Z, H Song, JP Higgins, P Pharoah, J Danesh (2006). «Five glutathione s-transferase gene variants in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls: meta-analysis of 130 studies». *PLoS Med* 3(4): e91.

¹ Departamento de Psicología Social
Facultad de Psicología. Universidad de Sevilla

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

Informal social support in elderly people who hosting university students

García González A. J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

RESUMEN

El presente estudio pretende analizar en qué medida los ancianos que forman parte del Programa de Alojamiento de la Universidad de Sevilla, ven incrementada su integración social a partir del uso de las redes de apoyo informal de que disponen. Algunos autores como (1) afirman el valor de las redes informales de apoyo y de la integración social del anciano en su comunidad como factor de bienestar y ajuste personal y social. La muestra está constituida por los ancianos que forman parte del Programa de Alojamiento de estudiantes de la Universidad de Sevilla. Con los resultados obtenidos se ha llevado a cabo un análisis de frecuencias absolutas y de contingencias para aquellas variables que aportan datos significativos. Esta investigación expone un incremento de visitas y del grado de afectación si dejara de mantener el contacto con las personas que forman parte de la red de apoyo informal (familiares y estudiantes).

Palabras Claves:

Apoyo informal, tercera edad, programa alojamiento, familia.

ABSTRACT

The present study intends to analyze in what measure the elders that form part of the Program of Lodging of the University of Seville, see increased its social integration from the use of the networks of informal support that arrange. Authors as (1) affirm the value of the informal networks of support and of the social integration of the elder in its community as factor of welfare and social and personal adjustment. The sample is constituted by the elders that form part of the students Lodging Program of the University of Seville. With the results obtained an analysis of absolute frequencies and of contingencies for those variables has been carried out that contribute significant data. This investigation exposes an increment of visits and of the degree of affection if it stopped maintaining the contact with the persons that form part of the network of informal support (family and students).

Key words:

Informal support, third age, program lodging, family.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 305-315

INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta los dos objetivos propuestos para el presente estudio que, por un lado, consideran la importancia que el apoyo emocional de las redes informales tiene para las personas mayores; y por otro, en qué medida aumenta la red estructural de la red de apoyo social de los efectos se ve aumentada durante su participación en el programa

Correspondencia:
A. J. García González.
Dpto. Psicología Social. Universidad de Sevilla
Camilo José Cela s/n. 41018 Sevilla
alfonsoj@us.es

de alojamiento; es necesario perfilar en primer lugar el concepto de apoyo social.

Una aproximación terminológica al concepto de apoyo social se basa en lo que (2) definen como «provisiones instrumentales y/o expresivas, reales o percibidas, aportadas por la comunidad, redes sociales y amigos íntimos».

En este sentido, las familias de las personas mayores son fuente de apoyo social que les acompañan, llegando a padecer incluso parte del deterioro generalizado que sufren en la última etapa vital (3). Se trata que, desde el seno familiar, el apoyo social que se aporte al anciano sea de calidad; poniendo en evidencia los aspectos positivos de los diferentes

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

procesos de ayuda en caso de enfermedad o desánimo generalizado, además de ayudar a la familia a superar y aceptar las nuevas situaciones que producen la jubilación, enfermedad, etcétera.

Por otra parte, (4) defiende que el apoyo social es un meta-constructo, con tres elementos conceptuales que se relacionan en un proceso dinámico de transacciones entre el sujeto, las redes de apoyo y su ambiente.

Por lo que respecta a los factores de contexto social, entre otros aparecen los siguientes:

1. Estresores, los cuales pueden facilitar (movilización de los miembros de la red) o dificultar (divorcio, enviudar, etc.) la creación de la red.
2. Familia, como principal fuente de apoyo, es importante en cuanto al nivel de cohesión y los conflictos que tienen lugar en su seno.
3. Roles sociales, que determinan la disponibilidad para crear nuevas relaciones o mantener las ya existentes.
4. Comunidad, que tiene un impacto en el propio diseño físico del espacio en las interacciones.

Junto con el ímpetu que adquiere la investigación en el ámbito del apoyo social desde los años 70 se produce un continuo redescubrimiento del valor de las redes informales de apoyo y de la integración social de la persona en su comunidad, desmitificando la creencia de que las grandes estructuras organizativas formales en la sociedad moderna han llevado al declive del rol que desempeñan los grupos primarios (familia, amigos, vecinos, comunidad, etc.) en el bienestar y ajuste personal y social (1).

Fue Dunham (1959; cit. en (5) quien destacó la importancia de los recursos informales de apoyo en la comunidad y los grupos de autoayuda en la reintegración social de los ancianos en su comunidad, Duhl (1963; cit. en (6) quien hizo hincapié en el rol de los cuidadores informales en la resolución de los problemas emocionales y en la reducción del estrés, así como en la importancia de ayudar a las personas a ayudar a otras, etc.. Todos ellos despertaron un gran interés por conocer el papel que las fuentes informales de apoyo desempeñan en el proceso de ajuste de los miembros de la comunidad. Trabajos que han fomentado el desarrollo de nuevas iniciativas de prevención e intervención con el objetivo de optimizar la calidad de los recursos informales de apoyo a la comunidad (1).

Esta necesidad de un mejor conocimiento de las redes informales de apoyo y el reconocimiento de su potencial para la prevención e intervención había sido anticipado desde la Psicología Comunitaria por Julian Rappaport, quien afirmaba en 1977 que, en el futuro la Psicología Comunitaria necesitaría estudiar, experimentar y comprender las comunidades y los sistemas de ayuda que concurren de forma natural y que se desarrollan en la familia, en los vecindarios y en las redes sociales donde las personas encuentran significado en sus vidas y un sentido psicológico de comunidad. Para Rappaport, al comprender mejor estos sistemas, seremos capaces quizás de hacer más para proveer de alternativas a aquellos miembros de la comunidad que «no se ajustan», en lugar de forzar a esas personas dentro de las limitadas opciones desarrolladas bajo control profesional (1).

Trabajos como los anteriores destacaban el hecho de que las personas acuden a las redes informales de apoyo en busca de ayuda para resolver sus problemas personales y que los servicios profesionales reciben sólo una pequeña proporción de esos problemas.

Relaciones entre las fuentes formales e informales de apoyo social

De acuerdo con el análisis de Fronland y otros (1981; cit. en (1), las redes informales de apoyo configuran un contexto de ayuda que es altamente pluralista y diferenciado con respecto a los tipos de personas involucradas, lo que hacen y por qué. Estas figuras de apoyo y ayuda incluyen miembros de la familia, amistades en las que se confía y personas que se acaban de conocer pero que acaban que están dispuestas a ayudar. Personas que ayudan a otras desconocidas como voluntarios o miembros de grupos de autoayuda pueden ser personas que tienen una preocupación especial acerca de un problema particular porque lo han experimentado en sus propias vidas o ha sido experimentado por alguien cercano a ellas; personas que desempeñan roles análogos al de los profesionales; o personas con tiempo y habilidades infrautilizadas. Miembros del vecindario o de la comunidad alrededor de problemas locales. Estos tipos diferentes de personas configuran un sistema ecológico de ayuda cotidiana en

el que las personas desempeñan roles complementarios o interrelacionados, ayudándose mutuamente, proporcionando apoyo o realizando diversas actividades en el vecindario o comunidad. La ayuda informal no es una actividad unidireccional sino que constituye un flujo mutuo que implica tanto la recepción como la provisión de ayuda. La ayuda se proporciona como parte de un intercambio mutuo y continuo que constituye un sistema más amplio de derechos y obligaciones dentro del grupo primario, vecindario, comunidad o cultura.

Entre los análisis teóricos más relevantes acerca de la importancia de los grupos informales, la necesidad de los sistemas formales de contar con ellos y el rol complementario que desempeñan, destaca el que nos ha proporcionado Litwak (1985 y 1990; cit. en (6). En su discusión Litwak se remonta a los planteamientos teóricos de Weber (1947; cit. en (6) para establecer los orígenes de la incompatibilidad y el «falso dilema» que supone tratar de escoger entre los valores y principios de las organizaciones formales y de los grupos primarios (Cooley, 1909; cit. en (5)). Aparentemente esta lección es necesaria debido al carácter opuesto de sus estructuras. Mientras que las organizaciones formales requieren evaluaciones objetivas, motivación económica, fragmentación y despersonalización de vínculos sociales, los grupos primarios necesitan de vínculos permanentes y de evaluaciones basadas en el afecto.

Por otra parte, instituciones y organizaciones profesionales de ayuda comienzan a reconocer que su labor en solitario no es suficiente para proporcionar los recursos y el apoyo social tan vital para el bienestar de las personas y de las comunidades donde viven (Warren, 1992; cit. en (7)). Cada vez es mayor el reconocimiento de que las necesidades humanas, particularmente las de las poblaciones más vulnerables, no pueden ser satisfechas en su totalidad por instituciones y servicios profesionales. De esta manera, si se pretende de atender adecuadamente a la población más necesitada, la utilización de redes informales de ayuda y apoyo se encuentra, sin duda, entre las más poderosas de esas estrategias alternativas de intervención. De hecho, desde la Asociación Americana de Psicología se identifican programas de prevención efectivos para grupos de riesgo a

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

lo largo del ciclo vital que puedan servir de modelos para los profesionales (Price y otros, 1989; cit. en (8)). Entre las características o facetas comunes de los programas que habían demostrado su efectividad se encontraban, entre otras, la provisión del apoyo social y su intento de fortalecer las redes naturales de apoyo (familia, comunidad y escuela).

De acuerdo con (9), la contribución de las redes sociales naturales en la salud y el bienestar difiere de la de los sistemas formales de apoyo en cinco aspectos fundamentales:

- a) Su accesibilidad natural.
- b) Su congruencia con las normas locales acerca del momento y forma en que el apoyo debe ser expresado.
- c) Sus raíces en relaciones duraderas entre iguales.
- d) Su variabilidad, comprendiendo desde la provisión de bienes y servicios materiales a la simple compañía.
- e) Su libertad e independencia de los costes económicos y psicológicos que tienen lugar cuando se utilizan los recursos profesionales.

Como señala este autor, puesto que las anteriores características son centrales en los procesos de apoyo social, desde la perspectiva de la provisión formal de ayuda y de la colaboración profesional con las redes informales de apoyo, los esfuerzos deben dirigirse a su preservación y fortalecimiento.

Es importante en este sentido, una nueva orientación en la formación profesional. Una nueva orientación que sea capaz de reflejar otras formas de definir los problemas y sus soluciones, que sea capaz de identificar e involucrar a las redes de apoyo en la comunidad, que sea sensible a las normas que rigen las redes informales de ayuda, que favorezca un cambio desde una perspectiva de déficits a una de potencialidades y de promoción de las habilidades y recursos comunitarios, que incorpore los principios de autodeterminación, autoconfianza y ayuda mutua en el proceso de provisión de ayuda, y que promueva relaciones basadas en la igualdad y en la responsabilidad compartida (Froland y otros, 1981; cit. en (1)).

Como concluyen Froland y otros (1981; cit. en (1)), la combinación de fuentes formales e informales no resulta un proceso fácil y puede que no

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

sea deseable o posible en numerosas circunstancias. No obstante, la búsqueda de fórmulas para lograr una mejor colaboración y articulación entre estas dos fuentes de ayuda es sin duda una valiosa línea de trabajo cuyo objetivo es lograr servicios más comprehensivos. También constituye una nueva oportunidad para lograr relaciones más igualitarias entre las fuentes informales y los servicios profesionales de ayuda y establecer un nuevo marco desde el que sea posible renegociar el equilibrio entre la responsabilidad pública y privada en la provisión de servicios de ayuda y apoyo.

MÉTODO

Descripción y justificación

El presente estudio se basa en el análisis de la Red de Apoyo Social (RAS) del Programa de Alojamiento que ofrece la Universidad de Sevilla a los estudiantes universitarios, junto con las personas mayores que ofrecen su domicilio a cambio de compañía, servicios de ayuda, etc.

Los instrumentos de evaluación de las RAS se pueden clasificar en función de lo que miden, de este modo, están los que evalúan fundamentalmente aspectos estructurales del apoyo, frente a los instrumentos que se centran preferentemente en las funciones (aspectos funcionales) que cumple el mismo.

Desde el enfoque estructural se evalúa la existencia de personas que son potencial o realmente fuentes de apoyo, lo que implica el análisis de redes sociales. Por tanto, estas mismas proporcionan un índice objetivo e indirecto de la disponibilidad de las funciones de apoyo (Cohen y Ashby, 1985; cit. en (7)).

Desde esta perspectiva, son el estado civil, la relación con otros familiares, etc., los índices más utilizados como medida de apoyo social. Además, para operativizar el grado de integración social (Krause, 1989; cit. en (7)), se atiende a:

a) Indicadores sociodemográficos (estado civil, visitas que recibe, etc.), por los que se asume la presencia de lazos sociales, tratándose de medidas útiles para especificar las condiciones bajo las cuales es posible el apoyo, pero no informan de si realmente se dan.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

- b) Número de relaciones en función de las visitas recibidas, personas con las que mantiene un contacto social asiduo.
- c) Análisis de la red, que describe la red de los mayores en dimensiones como el tamaño, visitas que reciben, etc. El análisis de redes sociales nos informa acerca de en qué relaciones puede intercambiarse el apoyo.

Sujetos

El Universo objeto de estudio es toda la población anciana de la capital de Sevilla, mayor de 65 años, que forma parte del Programa de Alojamiento para Estudiantes Universitarios de la Universidad de Sevilla. Dicho Universo se constituye a partir del listado de personas mayores que forman parte del Programa, el cual ha sido facilitado por la Trabajadora Social del Servicio de Asistencia a la Comunidad Universitaria (S.A.C.U.) de la Universidad de Sevilla, previo consentimiento de la muestra seleccionada. Según los datos a los que se ha tenido acceso y que se han consultado, el Universo objeto de este estudio consta de un total de 33 sujetos.

Al ser una población reducida la que pertenece a este Programa de Alojamiento, se ha considerado como muestra del estudio a todo el Universo que forma parte del Programa, sin considerar a los estudiantes universitarios que también lo integran, es decir, que sólo se ha tenido en cuenta a la población anciana del Programa. En este sentido, no ha sido necesario llevar a cabo ningún proceso de muestreo al respecto.

Diseño de la investigación

Para este estudio se plantea un diseño válido y útil para la investigación social sobre la vejez. En este sentido, se ha optado por el diseño de un solo grupo (el de los ancianos que forman parte del Programa de Alojamiento) con dos mediciones (una referida a la situación vivida por los ancianos antes de recibir el apoyo y otra basada en el momento en que el grupo de ancianos se beneficia de la Red de Apoyo Social).

Para analizar exhaustivamente las diferentes variables del estudio, se propone la utilización de un diseño descriptivo, que consiste en evidenciar la frecuencia con la que se dan las diferentes va-

riables de estudio en la población anciana. Además se han realizado tablas de contingencia para aquellas variables que aportan resultados muy significativos de cara a la contrastación de datos referentes a la población antes y durante el desarrollo del Programa de Alojamiento; de hecho se han tenido en cuenta aquellas contingencias que aportan un índice de fiabilidad del 0.01.

Selección del instrumento

A la hora de elegir el instrumento de recogida de datos se han seleccionado aquellos instrumentos que han resultado eficaces en investigaciones pasadas similares, aunque con leves modificaciones (fundamentalmente de redacción de algunos ítems) para la población objeto de estudio. De este modo, se incluyeron las siguientes escalas y cuestionarios:

- A) Cuestionario de Apoyo Social (Fernández del Valle y Errasti, 1991; cit. en (11)): en base al cual se han realizado las cuestiones que versan sobre la convivencia y la interacción de la persona mayor dentro de la red de apoyo a la que pertenece. Permite evaluar los aspectos funcionales de red, es decir, la intensidad de apoyo que aportan según la percepción del sujeto.
- B) Versión castellana del PGWB o Índice de Bienesestar Psicológico General (Bobes y otros, 1996; cit. en (11)), que contempla cinco factores, los cuales explican conjuntamente el 64,9% de la varianza total del instrumento. De este modo, se puede observar cómo el análisis factorial de la adaptación española del PGWB Index presenta un estructura similar a la versión original, quedando confirmada la validez de constructo. La varianza del instrumento queda distribuida factorialmente de la siguiente manera:
 - ▷ Estado de ánimo (ansiedad-depresión): 37.3%.
 - ▷ Vitalidad: 9.2%.
 - ▷ Autocontrol: 6.9%.
 - ▷ Salud: 6.3%.
 - ▷ Estado psicofísico: 5.2%.
- C) Adaptación de la Escala de Depresión para Ancianos (GDS) (Brink et al., 1982; cit. en (11)), adaptada por Izal y Montorio, 1993, de la cual se han tomado once ítems que han resultado válidos para la población anciana, respondien-

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

do a posibles estados psicofísicos en los que se encuentra la persona en esta etapa vital.

- D) Valoración de los diferentes factores psicosociales en la calidad de vida (11), que consta de nueve ítems validados en una población de sujetos con edades superiores a 65 años, residentes de derecho en la provincia de Granada.

Administración del cuestionario

El encuestador, en casa de la persona que iba a ser encuestada, se presentaba como miembro de un equipo de investigación que está realizando un estudio sobre Tercera Edad y Calidad de Vida. Acto seguido, se pasaba a leer detenidamente cada una de las instrucciones del cuestionario al sujeto, asegurándose de su plena comprensión.

De hecho, para garantizar la fiabilidad del cuestionario y no contaminar al sujeto con ideas, juicios y estimaciones del entrevistador, éste leía, exacta, repetidamente y con la misma entonación, aquellos ítems que la persona entrevistada no comprendiera o no escuchara con precisión.

RESULTADOS

Para la obtención de los resultados de este estudio se ha aplicado un análisis cuantitativo mediante la aplicación del programa informático SPSS versión 11.0, a través del cual se han podido extraer tablas de frecuencias y analizar tablas de contingencia referidas a variables significativas del estudio.

En primer lugar, y comparando las respuestas de los encuestados antes y durante la participación en el Programa de Alojamiento, se observa cómo hay un aumento significativo en cuanto a la vida social mantenida por parte de las personas mayores. Así se observa un mayor número de visitas que la persona anciana recibe en su domicilio, lo cual es un indicador del incremento de las relaciones sociales. De este modo, se da un incremento del porcentaje de visitas de 39,4% de visitas con anterioridad a la participación en el programa, a un 78% de visitas una vez incluido en el mismo (Tablas 1 y 2).

También se encuentra un dato positivo en lo que se refiere a las expectativas futuras de las personas mayores, pasando a ser un 100% los que contemplaban el deseo de permanecer en su

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

TABLA 1. Visitas que recibía la persona mayor en su domicilio antes de formar parte del Programa de Alojamiento

	Frecuencia	Porcentaje válido
Recibe visitas de familiares y amigos a diario	6	18,2
Recibe visitas diversos días de la semana	13	39,4
Recibe visitas sólo los festivos	7	21,2
Sólo acuden personas del voluntariado	3	9,1
No recibe visitas	4	12,1
Total	33	100,0

TABLA 2. Visitas que recibe la persona mayor en su domicilio

	Frecuencia	Porcentaje válido
No recibe visitas	4	12,1
Recibe visitas	26	78,8
Sólo acuden voluntarios	3	9,1
Total	33	100,0

TABLA 3. Cuando tenía problemas se los contaba

	Frecuencia	Porcentaje válido
Siempre	16	48,5
A veces	9	27,3
Nunca	8	24,2
Total	33	100,0

TABLA 4. Cuando sabía que tenía un problema, le ayudaba

	Frecuencia	Porcentaje válido
Siempre	15	45,5
A veces	13	39,4
Nunca	5	15,2
Total	33	100,0

vivienda en los próximos tiempos, frente al 84%, que lo manifestaba antes de formar parte de este programa, habiendo un mayor número de personas ancianas que no descartaban ingresar en un futuro en una residencia de ancianos.

En tal medida se considera importante la convivencia del estudiante universitario por parte de los mayores, que un 78,8% de ellos piensan que

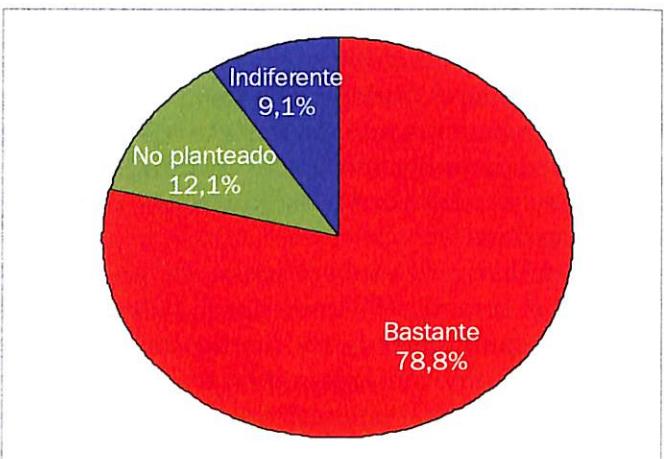


Fig. 1. En qué medida le afectaría dejar de ver a esta persona.

les afectaría mucho dejar de ver a esa persona con la que actualmente convive. Este grado de importancia se refleja en un dato significativo de la confianza depositada en los estudiantes, a los cuales, si las personas mayores se encuentran con algún problema, se lo cuentan un 48,5%, y éstos (los ancianos) ayudan a resolverlo siempre en un 45,5% (Tablas 3 y 4).

Por otro lado, las relaciones mantenidas con los estudiantes alojados en los hogares, se manifiestan en un grado alto de relevancia. Esto se debe a la consideración y alta estima que tienen de estos contactos las personas senectas, las cuales reconocen que el contacto a diario que mantienen con ellos es tan importante que desean seguir manteniéndolo, y que si por algún motivo dejaran de tener relación con ellos les afectaría bastante en un 78,8% (Figura 1).

Una vez llevado a cabo el análisis descriptivo de frecuencias de las variables estudiadas, resulta in-

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

TABLA 5. Cuando tenía problemas se los contaba * Cuando tiene problemas se los cuenta

Cuando tenía problemas se los contaba	Siempre	Recuento	Cuando tiene problemas se los cuenta			Total
			Siempre	A veces	Nunca	
Cuando tenía problemas se los contaba	Siempre	Recuento	16	0	0	16
			Frecuencia esperada	7,8	4,4	3,9
	A veces	Recuento	Residuos corregidos	5,7	-3,4	-3,2
			Frecuencia esperada	4,4	2,5	2,2
Nunca	A veces	Recuento	Residuos corregidos	-3,4	5,7	-2,0
			Frecuencia esperada	3,9	2,2	1,9
	Nunca	Recuento	Residuos corregidos	-3,2	-2,0	5,7
			Frecuencia esperada	3,9	2,2	8,0
Total	Total	Recuento	16	9	8	33
			Frecuencia esperada	16,0	9,0	8,0

TABLA 6. Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	66,000	4	,000
Razón de verosimilitud	69,226	4	,000

a) 8 casillas (88,9%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 1,94.

teresante la interpretación de las tablas de contingencia resultantes de las variables más significativas del estudio propuesto. Con el procedimiento de las tablas de contingencia se pueden crear tablas de clasificación dobles y múltiples y, además, proporcionar una serie de pruebas y medidas de asociación para las tablas de doble clasificación.

De este modo, en relación con la variable denominada «Cuando tenía/tiene problemas se los cuenta», es destacable el hecho de que la mayoría de los ancianos responden de igual forma a este ítem, tanto antes de pertenecer al programa de alojamiento como durante el disfrute del mismo. De este modo, se puede afirmar que, el formar parte del programa, no implica un cambio sustancial en el grado de confianza que los ancianos tenían para contar sus problemas. En este caso se comprueban

los resultados en una probabilidad para una χ^2 de 99 con 4 grados de libertad, siendo menor que 0,01, es decir, $P(\chi^2=99,4) < 0,01$ (Tablas 5 y 6).

En el análisis de las interacciones sociales que se desarrollan a partir de los elementos que forman parte de la RAS de los ancianos, se puede apreciar cómo los sujetos que antes de pertenecer al programa tenían relaciones con el entorno familiar normales, o bien, tenían buenas relaciones con personas externas al núcleo familiar, o si no tenían relaciones familiares, tenían contactos sociales muy restringidos; durante la implementación del programa las personas que forman parte del estudio mantienen su opinión con respecto a las «Relaciones con el entorno familiar». Del mismo modo se da una tendencia negativa entre aquellos sujetos que durante el programa de alojamiento opinaban que tenían relaciones normales, lo cual no supone que tuvieran buenas relaciones con personas externas al núcleo familiar antes de formar parte del programa. Asimismo, se comprueban los resultados en una probabilidad para una χ^2 de 99 con 9 grados de libertad, siendo menor que 0,01, es decir, $P(\chi^2=99,9) < 0,01$. (Tablas 7 y 8)

Al igual que se ha comprobado en el análisis de frecuencias, con respecto a las «Visitas que reciba/recibe la persona mayor en su domicilio», se

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

TABLA 7. Relaciones con el entorno familiar antes de formar parte del Programa de Alojamiento *
Relaciones con el entorno familiar

	Normales	Recuento	Relaciones con el entorno familiar			Total
			Buenas relaciones	Contactos sociales muy restringidos	Normales	
Relaciones con el entorno familiar antes de formar parte del Programa de Alojamiento	Normales	Recuento	0	0	27	0
			Frecuencia esperada	,2,5	,8	22,1
			Residuos corregidos	-3,9	-2,2	5,7
	Sin relaciones familiares	Recuento	0	0	0	2
			Frecuencia esperada	,2	,1	1,6
			Residuos corregidos	-,5	-,3	-3,1
Buenas relaciones con personas externas al núcleo familiar	Buenas relaciones con personas externas al núcleo familiar	Recuento	3	0	0	0
			Frecuencia esperada	,3	,1	2,5
			Residuos corregidos	5,7	-,3	-3,9
	Contactos sociales muy restringidos	Recuento	0	1	0	0
			Frecuencia esperada	,1	,0	,8
			Residuos corregidos	-,3	5,7	-2,2
Total		Recuento	3	1	27	2
			Frecuencia esperada	3,0	1,0	27,0
						33

TABLA 8. Pruebas de chi-cuadrado

Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	99,000	9 ,000

a) 15 casillas (93,8%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,03.

da un cambio significativo en el sentido de que antes del programa los sujetos recibían visitas de voluntarios, mientras que durante el programa, las personas mayores reciben visitas más frecuentemente. Además se mantiene el número de contactos sociales de aquellas personas que no reci-

ben visitas antes y durante el programa. En esta variable, se comprueban los resultados en una probabilidad para una χ^2 de 99 con 8 grados de libertad, siendo menor que 0,01, es decir, $P(\chi^2=99,8) < 0,01$ (Tablas 9 y 10).

DISCUSIÓN

En este apartado se destacan aquéllas investigaciones y teorías sobre la ancianidad que vienen a fundamentar los objetivos propuestos en el presente estudio y contrastar los resultados obtenidos a partir de los sujetos estudiados.

En relación con el primer objetivo propuesto referido a la importancia que tiene el apoyo emocional que ofrecen las redes informales, he-

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

TABLA 9. Visitas que recibía la persona mayor en su domicilio antes de formar parte del Programa de Alojamiento * Visitas que recibe la persona mayor en su domicilio

	Visitas que recibía la persona mayor en su domicilio antes de formar parte del Programa de Alojamiento	Recibe visitas de familiares y amigos a diario	Recuento	Visitas que recibe la persona mayor en su domicilio			Total
				No recibe visitas	Recibe visitas diversos días de la semana	Sólo acuden personas del voluntariado	
			Frecuencia esperada	,7	4,7	,5	6,0
			Residuos corregidos	-1,0	1,4	-,9	
		Recibe visitas diversos días de la semana	Recuento	0	13	0	13
				Frecuencia esperada	1,6	10,2	1,2
		Recibe visitas sólo los festivos	Recuento	Residuos corregidos	-1,7	2,4	-1,5
				Frecuencia esperada	,8	5,5	,6
		Sólo acuden personas del voluntariado	Recuento	Residuos corregidos	-1,1	1,5	-,9
				Frecuencia esperada	,4	2,4	,3
		No recibe visitas	Recuento	Residuos corregidos	-,7	-3,5	5,7
				Frecuencia esperada	,5	3,2	,4
		Total	Recuento	Residuos corregidos	5,7	-4,1	-,7
				Frecuencia esperada	4	26	3
			Frecuencia esperada	4,0	26,0	3,0	33,0

TABLA 10. Prueba de Chi-cuadrado

Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	66,000	6 ,000

a) 13 casillas (86,7%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,27.

mos de decir que Dunham (1959; cit. en (5) y Duhl (1963; cit. en (5), destacan la importancia de los recursos informales de apoyo en la comu-

nidad y los grupos de autoayuda en la reintegración social de los ancianos; asimismo destacan el rol de los cuidadores informales en la resolución de los problemas emocionales y en la reducción del estrés, desempeñando un papel fundamental en el proceso de ajuste de los miembros de la comunidad.

Para Abellán (10) la confianza en los cuidadores informales (familia o amigos de los ancianos) puede ser tan grande que llega a ser excluyente de otros tipos de ayuda, confiando sólo en sus cuidados. Ahora bien, para conseguir la meta de la integración social del anciano se hace

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

necesario que, tanto la sociedad como la familia, tomen conciencia de la situación de este grupo de población y se habiliten los medios oportunos para su solución.

Todo esto se evidencia con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el que el 100% de las personas mayores desean permanecer en sus hogares en los próximos tiempos, tras su convivencia con los estudiantes universitarios participantes en el programa; así como destacan la importancia que supone el apoyo emocional de los mismos, destacando en un 78.8% de los casos que les afectaría mucho dejar de ver a esa persona con la que conviven hoy día.

A la vista de todo lo anterior se puede decir que las Redes de Apoyo Social informales inciden positivamente en la integración social del anciano en su contexto; y en este sentido, los estudiantes universitarios pueden ser considerados como miembros de la familia del anciano con el que conviven, constituyendo uno de los principales apoyos para éstos. De este modo, aunque el servicio de ayuda a domicilio que presta la Universidad de Sevilla a los mayores que forman parte del Programa de Alojamiento es formal, no obstante, el tipo de relaciones que llegan a establecer estudiantes-ancianos puede considerarse de carácter informal.

En segundo lugar, en la investigación se pretende analizar las interacciones sociales que se desarrollan a partir de los diferentes elementos que conforman la RAS (red estructural). Así, de acuerdo con el análisis de Froland y otros (1981; cit. en (1) las redes estructurales de las RAS de las que forman parte los ancianos pueden estar constituidas por figuras de apoyo y ayuda que incluyen miembros familiares, amistades en las que se confía, voluntarios que están dispuestos a ayudar, etc.. Miembros del vecindario o de la comunidad también pueden tener alguna habilidad especial para movilizar a otros miembros de la comunidad, dando lugar a un sistema ecológico de ayuda cotidiana en el que las personas desempeñan roles complementarios o interrelacionados, ayudándose mutuamente y proporcionando apoyo.

Según Rogers (1987; cit. en (1), las intervenciones dirigidas a la alteración de la estructura, composición y/o intercambios de apoyo de la

red social de la persona, o incluso de sus normas acerca de la búsqueda de ayuda, poseen una mayor validez ecológica. De este modo, las intervenciones que se desarrollan a partir del contexto social, y que tienen como objetivo este mismo contexto poseen, desde la perspectiva de la planificación de las estrategias de intervención social, un particular interés por generar cambios positivos en la salud y un ajuste psicosocial con esas comunidades.

La interacción social supone, según (1) la presencia de una persona de confianza en la red social que produce una buena salud mental y una moral elevada en el anciano, actuando como un mecanismo protector y reduciendo la ansiedad y la tensión que producen los sucesos vitales estresantes. Además, las relaciones de amistad también actúan como un mecanismo que reafirma los sentimientos de autoestima y valía personal en la tercera edad.

Por lo que respecta a los resultados, en relación con el segundo objetivo, hay que destacar un aumento significativo en cuanto a la vida social desarrollada por los mayores. Así, se observa un mayor número de visitas que la persona anciana recibe en su domicilio, lo cual es un indicador del incremento de las relaciones sociales; de hecho, de un 39.4% de la población que recibían visitas con anterioridad a la participación en el programa, se pasa a un 78% de visitas una vez incluido en el mismo; este dato se corrobora igualmente en la Tabla 9. Las personas que forman parte del estudio mantienen su opinión respecto a las relaciones con el entorno familiar, de manera que los sujetos manifiestan tener relaciones normales, o bien, tener buenas relaciones con personas externas al núcleo familiar; y si no tienen relaciones familiares, mantienen contactos sociales muy restringidos (ver Tabla 7).

Una vez analizado el segundo objetivo del estudio, se puede afirmar que la red estructural de la RAS de los ancianos está constituida por interacciones sociales, que se ven incrementadas a partir de la implementación del Programa de Alojamiento. De esta manera, los estudiantes universitarios se presentan como personas nuevas en la vida de los senectos que, sin embargo, están dispuestos a facilitar el día a día de aque-

García González A.J., Troyano Rodríguez Y., Marín Sánchez M.

Redes de apoyo informal en personas mayores que acogen a estudiantes universitarios

llos. Tal es así que se establece una relación simbiótica entre anciano-estudiante, en la que el primero provee al segundo de alojamiento,

mientras que el estudiante asume el rol, en muchas ocasiones, de cuidador informal, representado por la figura social de un amigo.

Referencias bibliográficas

1. Gracia E, Herrero J y Musitu G. El apoyo social, Barcelona: P.P.U.; 1995.
2. Lin N, Dean A y Ensel WM. Social support, life events and depression, Nueva York: Academic Press; 1986.
3. Muñoz J. Psicología del Envejecimiento, Madrid: Psicología Pirámide; 2003.
4. Vaux A. Social support: Theory, research and intervention, Nueva York: Praeger; 1988.
5. Gracia E y Musitu G. Psicología Social de la familia, Barcelona: Paidos; 2000.
6. Martín AV. Educación y envejecimiento, Barcelona: P.P.U.; 1994.
7. Barrón A. Apoyo social. Aspectos teóricos y publicaciones, Madrid: Siglo XXI; 1996.
8. Petriz G. Programas educativos universitarios para mayores. X Encuentro Nacional de Programas Educativos Universitarios para Adultos Mayores. Curso virtual educación para el envejecimiento, 1997 [citada 2002 noviembre 14] Disponible en la URL: <http://www.psiconet.com/tiempo/educacion/programas.htm>
9. Gottlieb BH. Marshalling social support, Newbury Park: Sage; 1988.
10. Abellán A. Por qué los mayores no utilizan la ayuda formal. Revista Multidisciplinar de Gerontología 1999; 9: 183-87.
11. Fernández J, García A. Redes de apoyo social en usuarios del servicio de ayuda a domicilio de la tercera edad. Psicothema 1994; 6: 39-47.

Importancia de los polimorfismos genéticos de selectinas y factor tisular en la etiopatogenia de la enfermedad tromboembólica venosa en pacientes jóvenes

Role of genetic polymorphism in selectins and tissue factor in venous thromboembolism in young patients

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverter Calatayud J.C.

Servicio de Hemoterapia y Hemostasia, Hospital Clínic e Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona

RESUMEN

Objetivo: Estudiar la importancia de los polimorfismos de la P-selectina (Thr715Pro), del ligando de la P-selectina PSGL-1 (VNTR y M62I) y del factor tisular (-1208I/D) en la etiopatogenia de la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) en pacientes jóvenes.

Procedimientos: Se seleccionaron 82 pacientes con ETV y edad igual o inferior a 50 años. Cuarenta y un pacientes con ETV idiopática (Grupo 1), (edad $34,4 \pm 9,61$ años; 51% mujeres) y 41 pacientes con ETV asociada a los factores genéticos de trombofilia más prevalentes (factor V Leiden y mutación G20210A de la protrombina) (Grupo 2) (edad $34,2 \pm 11,7$ años; 63% mujeres) y 82 controles voluntarios sanos emparejados por edad y sexo. Los polimorfismos de P-selectina (Thr715Pro), PSGL-1 (VNTR y M62I) y factor tisular (-1208I/D) se determinaron por PCR.

Resultados: No hubo diferencias en la distribución de genotipos de P-selectina Thr715Pro, PSGL-1 VNTR y factor tisular -1208I/D entre los controles y los grupos de pacientes. Para el polimorfismo de PSGL-1 M62I, la prevalencia de portadores heterocigotos (M/I) fue significativamente mayor en los pacientes del grupo 2 (25%) que en los del grupo 1 (15%) o en el grupo control (10%) ($p < 0,05$).

Conclusión: El polimorfismo M62I de PSGL-1 puede contribuir a la expresión trombótica en pacientes jóvenes portadores de factor V Leiden o mutación G20210A de la protrombina.

Palabras clave:

Trombosis venosa, P-selectina, factor tisular, PSGL-1, micropartículas, polimorfismos genéticos.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 316-322

Correspondencia:

M. D. Tàssies.
Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic.
Villarroel 170. 08036 Barcelona
dtassies@clinic.upc.es

Beca de Investigación de FUNDACIÓN MAPFRE, 2006.

ABSTRACT

Objective: To analyze the role of functional polymorphisms on P-selectin (Thr715Pro), P-selectin glycoprotein ligand PSGL-1 (VNTR and M62I) and tissue factor (-1208I/D) in venous thromboembolism (VTE) in young patients.

Methods: Eighty-two patients with VTE younger than 50 years were included. Forty-one patients had idiopathic VTE (Group 1) (mean age $34,4 \pm 9,61$ years; female gender 51%) and 41 had VTE associated with the common thrombophilia polymorphisms factor V Leiden or prothrombin G20210A (Group 2) (mean age $34,2 \pm 11,7$ years; female gender 63%). In addition, eighty-two age and sex matched healthy controls were also included. P-selectin Thr715Pro, PSGL-1 VNTR and M62I and TF -1208I/D polymorphisms were determined by PCR.

Results: There were no differences in genotype distribution among controls and Group 1 or Group 2 patients for P-selectin Thr715Pro, PSGL-1 VNTR and TF -1208I/D polymorphisms. For PSGL-1 M62I polymorphism, the prevalence of heterozygous (M/I) carriers was significantly higher in patients of Group 2 (25%) than in patients of Group 1 (15%) or in controls (10%) ($p < 0,05$).

Conclusion: M62I polymorphism on PSGL-1 may contribute to the thrombotic expression in young patients carriers of factor V Leiden or prothrombin G20210A polymorphisms.

Keywords:

Venous thrombosis, P-selectin, tissue factor, PSGL-1, microparticles, genetic polymorphisms.

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverter Calatayud J.C.

Selectinas, factor tisular y trombosis venosa

INTRODUCCIÓN

La trombosis venosa es una enfermedad compleja y multifactorial en la que en alrededor del 50% de los episodios no se halla una causa etiopatogénica identificable. En los últimos años se ha puesto de manifiesto el importante papel que las micropartículas circulantes tienen en la iniciación y la amplificación de la coagulación (1-3). Estas micropartículas son fragmentos celulares liberados por las células sanguíneas (plaquetas, monocitos, células endoteliales) y llevan en su superficie proteínas de membrana de las células de las que proceden, actuando como los principales vectores funcionales de dichas proteínas. Las principales proteínas relacionadas con la generación de micropartículas, su reclutamiento en el interior del trombo en formación y la progresión del mismo son la P-selectina, el ligando de la P-selectina (PSGL-1, P-selectin glycoprotein ligand 1) y el factor tisular (4). Así, se ha demostrado que la presencia de factor tisular en las micropartículas es crítica para un correcto desarrollo del trombo (1). Por su parte, la P-selectina, expresada por las plaquetas activadas, y su ligando PSGL-1 expresado en las micropartículas, permiten el anclaje de las micropartículas a las plaquetas adheridas al coágulo en formación (1, 2), contribuyendo a la progresión del mismo. Además, la interacción P-selectina/ PSGL-1 induce tanto la expresión de factor tisular como la formación de micropartículas, contribuyendo todo ello a la generación de un estado protrombótico (3, 5-7).

La expresión de selectinas y factor tisular está en parte regulada genéticamente por polimorfismos en los genes que las codifican, determinando en ocasiones un mayor riesgo trombótico. Entre los polimorfismos de P-selectina el Thr715Pro se ha asociado al riesgo de enfermedad cardiovascular (8-10) y con los niveles de P-selectina soluble (11, 12). En el PSGL-1 dos polimorfismos parecen tener relevancia: un polimorfismo de tamaño VNTR (variable number of tandem repeats) que determina la longitud del dominio extracelular de la proteína, dando lugar a los alelos A, B y C (13) y que se ha asociado al riesgo de enfermedad cerebrovascular (14), y el polimorfismo M62I, que se ha relacionado con el riesgo de enfermedad cardiovascular (10). Por su parte, el gen del factor tisular presenta seis polimorfismos en su región promotora (15), de los

que cuatro son completamente concordantes y definen dos haplotipos de frecuencia similar. El haplotipo D (-1208D/-603A/-1322C/-1812C) y el haplotipo I (-1208I/-603G/-1322T/-1812T). Estos polimorfismos se han asociado tanto a trombosis venosa como a infarto de miocardio (15, 16).

Así pues, en algunas de las trombosis venosas que se dan en pacientes jóvenes, en las que no se halla ningún factor etiopatogénico, los polimorfismos de las citadas proteínas podrían estar implicados en la etiopatogenia. A su vez, en pacientes con trombosis venosa en los que se halla un factor de trombofilia prevalente en nuestra población (factor V Leiden o mutación G20210A de la protrombina), la diferente expresividad clínica trombótica puede estar modificada o regulada por los polimorfismos en P-selectina, PSGL-1 y factor tisular y por tanto estos polimorfismos podrían constituir un potencial factor patogénico en la trombosis venosa.

El objetivo del presente estudio fue estudiar la relación entre los polimorfismos de la P-selectina, de PSGL-1 y factor tisular y las trombosis venosas en pacientes jóvenes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos de estudio

Se incluyeron en el estudio 82 pacientes afectos de trombosis venosa y edad igual o inferior a 50 años. Cuarenta y un pacientes presentaron trombosis no asociada a factores de trombofilia conocidos (Grupo 1), (edad $34,4 \pm 9,61$ años; 51% mujeres) y 41 pacientes con trombosis venosa asociada a los factores genéticos de trombofilia más prevalentes (factor V Leiden y mutación G20210A de la protrombina) (Grupo 2) (edad $34,2 \pm 11,7$ años; 63% mujeres). Se excluyó en todos los pacientes la existencia de déficits de proteína C, proteína S, antitrombina y la presencia de anticuerpos antifosfolípido. Se incluyeron 82 controles voluntarios sanos emparejados con los grupos anteriores por edad y sexo.

Métodos

La dosificación de proteína C, proteína S y antitrombina se realizó con técnicas cromogénicas y de ELISA. La resistencia a la proteína C activada

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverte Calatayud J.C.

Selectinas, factor tisular y trombosis venosa

se determinó mediante una prueba coagulométrica. En los pacientes con resistencia fenotípica se investigó la mutación Arg506Gln del factor V mediante PCR (polymerase chain reaction). La determinación de la mutación G20210A del gen de la protrombina se realizó en todos los pacientes por PCR. La determinación de anticuerpos anticardiolipina se realizó mediante ELISA y la del anticoagulante lúpico siguiendo las directrices del Subcommittee for the Standardization of Lupus Anticoagulants de la International Society of Thrombosis and Haemostasis (17).

El factor tisular circulante, se cuantificó por ELISA (American Diagnostica). La P-selectina soluble se midió por ELISA (R&D Systems).

Se analizaron los polimorfismos de la P-selectina Thr715Pro, PSGL-1 (VNTR y M62I) y del factor tisular (-1208I/D -603A/G, -1322C/T, -1812C/T), mediante PCR, en las condiciones que se detallan en la Tabla 1. Como marcador del haplotipo I/D del factor tisular se escogió el polimorfismo (-1208I/D).

Métodos estadísticos:

Estrategia de análisis: El análisis principal se efectuó sobre el genotipo de los polimorfismos de P-selectina (Thr715Pro), PSGL-1 (VNTR y M62I) y factor tisular (-1208I/D) en los pacientes con trombosis no asociada a factores de trombofilia conocidos (Grupo 1), en los pacientes con trombosis asociada a factor V Leiden o mutación G20210A de la protrombina (Grupo 2) y en los controles. El análisis se llevó a cabo a partir de la exportación desde una base de datos en Access, con un registro único por paciente. El análisis se realizó con el paquete SPSS. La homogeneidad entre grupos se comprobó mediante ANOVA, comparándolos después con el grupo control mediante la prueba de Dunnett. En las variables cualitativas se empleó la prueba de Chi-cuadrado. La odds ratio (OR) se calculó a partir de tablas de contingencia y se estimó el intervalo de confianza (IC) del 95% por el método de Woolf.

TABLA 1. Condiciones de la PCR para los polimorfismos estudiados

	Ref.	Primers	Hibridación	Digestión	Bandas (bp)
P-selectina	11	Sense: GCC AAT AGC GAT GAA CTG CT Antisense: GGA TGG AAA GCA AGA CCA CT	60°C	BstE II	Thr: 256 Pro: 129, 127
PSGL-1 VNTR	13, 14	Sense: CCT GTC CAC GGA TTC AGC Antisense: GGG AAT GCC CTT GTG AGT AA	57°C	-	A: 559 B: 529 C: 499
PSGL-1 M62I	18	Sense alelo A: GAA ACG GAG CCT CCA GAA ATA Sense alelo G: AAA CGG AGC CTC CAG AAA TG Antisense: GTC GAA TCC GTG GAC AGG TT	62°C	-	M: 184 I: 185
Factor tisular -1208I/D	19	Sense: CTA TAT TGC CTG CAAGAC ACG Antisense: CAG TTC AGG CAA AGG AGG AA	60 °C	-	I: 205 D: 187

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverte Calatayud J.C.

Selectinas, factor tisular y trombosis venosa

RESULTADOS

Pacientes:

De los 41 pacientes del Grupo 1, 18 presentaron trombosis venosa en extremidades inferiores, 17 tromboembolismo pulmonar y 6 trombosis en extremidades superiores. De los pacientes del Grupo 2, 29 presentaron trombosis en extremidades inferiores, 10 tromboembolismo pulmonar y 2 trombosis en extremidades superiores. Entre los pacientes con trombofilia, 20 eran portadores heterocigotos de la mutación factor V Leiden, 17 de la mutación del gen de la protrombina G20210A, y 4 pacientes eran doble heterocigoto para las citadas mutaciones.

Polimorfismos de P-selectina, PSGL-1 y factor tisular:

La distribución de genotipos para los polimorfismos estudiados de P-selectina, PSGL-1 VNTR y factor tisular en pacientes y controles se reflejan en las Tablas 2, 3 y 4. No hubo diferencias significativas en la distribución de genotipos de los polimorfismos Thr715Pro de P-selectina, VNTR de PSGL-1 y -1208I/D del factor tisular entre los pacientes del Grupo 1 y del Grupo 2. Tampoco hubo diferencias en la distribución de

TABLA 2. Prevalencia del polimorfismo Thr715Pro de P-selectina

	Controles (%)	Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)
Thr/Thr	84	83	85
Thr/Pro	15	15	15
Pro/Pro	1	2	-

TABLA 3. Prevalencia del polimorfismo VNTR de PSGL-1

	Controles (%)	Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)
AA	69	68	73
AB	29	24	22
AC	-	5	3
BB	2	-	2
BC	-	3	-

TABLA 4. Prevalencia del polimorfismo -1208I/D del factor tisular

	Controles (%)	Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)
Thr/Thr	84	83	85
I/I	24	34	24
I/D	57	37	61
D/D	19	29	15

TABLA 5. Prevalencia del polimorfismo M62I de PSGL-1

	Controles (%)	Grupo 1 (%)	Grupo 2* (%)
GG (MM)	90	85	75
AG (MI)	10	15	25
AA (II)	-	-	-

(*) $p < 0,05$ GG vs. AG Grupo 2 vs. Controles.
OR:2,98, 95% IC: 1,08-8,27.

dichos polimorfismos entre los grupos de pacientes y el grupo control.

Para el polimorfismo de PSGL-1 M62I, la prevalencia de portadores heterocigotos (M/I) fue significativamente mayor en los pacientes del Grupo 2 (25%) que en los del Grupo 1 (15%) o en el grupo control (10%) ($p < 0,05$) (OR:2,98 95% IC 1,08-8,27) (Tabla 5).

Niveles plasmáticos de P-selectina y factor tisular:

El genotipo Thr/Thr se asoció a unos niveles más altos de P-selectina soluble ($55,82 \pm 34,6$ ng/mL) comparado con el genotipo Thr/Pro ($32,00 \pm 18,42$ ng/mL), $p=0,023$ (Tabla 6).

TABLA 6. Niveles de P-selectina soluble

	Total de pacientes (ng/mL)	Grupo 1 (ng/mL)	Grupo 2 (ng/mL)
Thr/Thr	$55,82 \pm 34,6$	$61,55 \pm 37,53$	$50,43 \pm 31,10$
Thr/Pro	$32,00 \pm 18,42$	$27,83 \pm 19,13$	$36,17 \pm 18,42$
Pro/Pro	7	7	-

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverte Calatayud J.C.

Selectinas, factor tisular y trombosis venosa

Los niveles plasmáticos de factor tisular soluble se encontraron dentro de la normalidad, sin observarse diferencias según el genotipo -1208I/D ($35,38 \pm 17,41$ pg/mL, $35,37 \pm 21,40$ pg/mL y $38,14 \pm 36,52$ pg/mL para los genotipos II, I/D, y D/D, respectivamente, $p=NS$). No se observaron diferencias en los niveles de factor tisular en entre los grupos de pacientes ni con el grupo control (Grupo 1: $36,62 \pm 23,04$; Grupo 2: $35,39 \pm 25,91$, Controles: $33,21 \pm 20,02$, $p=NS$).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo apoyan un papel modulador de la expresión trombotica del polimorfismo M62I del ligando de la P-selectina PSGL-1 en aquellos pacientes con trombosis venosa portadores del factor V Leiden o la mutación G20210A de la protrombina.

El PSGL-1 es el principal ligando de P-selectina, y se ha demostrado su importante papel en la mayoría de las funciones de P-selectina (20). Así, la interacción de P-selectina con PSGL-1 es crucial en el reclutamiento de micropartículas portadoras de factor tisular en las fases iniciales de formación del trombo. La importancia de las micropartículas en su papel potenciador de la propagación del trombo ha cobrado relevancia en los últimos años en la etiopatogenia de las trombosis arteriales, pero también más recientemente en las trombosis venosas (3).

El polimorfismo M62I de PSGL-1 se localiza cerca del sitio de unión de PSGL-1 a la P-selectina, y por ello se ha postulado que el alelo 62I podría modificar la afinidad de PSGL-1 para P-selectina.

En referencia al polimorfismo VNTR de PSGL-1, algunos estudios experimentales apuntan que los alelos de menor tamaño tendrían una menor capacidad de unión a plaquetas activadas (14). En esta línea, y desde el punto de vista clínico, los alelos más cortos (B y C) del polimorfismo VNTR se han asociado con un menor riesgo de enfermedad cerebrovascular aunque no con enfermedad cardiovascular o trombosis venosa profunda (14, 22). Estos resultados en trombosis venosa estarían en consonancia con la ausencia de relación de dicho polimorfismo con la trombosis que hemos hallado en nuestra serie.

La P-selectina, tiene un gen muy polimórfico, pero únicamente el polimorfismo Thr715Pro se

Por el contrario, en el presente trabajo hemos hallado que el alelo 62I podría favorecer el desarrollo de trombosis venosas en un subgrupo de pacientes jóvenes que tienen además alguno de los factores biológicos de trombofilia más prevalentes en nuestro medio, la mutación factor V Leiden o la mutación G20210GA de la protrombina. Esta aparente discrepancia con el estudio de Burget y cols. podría explicarse por varios motivos. En primer lugar por el diseño del estudio, orientado a cardiopatía isquémica en un caso y a tromboembolismo venoso en un grupo de pacientes jóvenes en el nuestro. En segundo lugar, en el estudio de Burget y cols. podría existir un sesgo en la selección de los pacientes, ya que se incluyen pacientes con enfermedad coronaria, de los cuales, sólo un 13% habían presentado infarto de miocardio. En el caso de que el alelo 62I favoreciese el desarrollo de trombosis arterial o estuviera en relación con la gravedad de la misma, en el estudio de Burget y cols. podrían haber quedado excluidos precisamente los pacientes con una cardiopatía isquémica más grave, es decir, aquellos que fallecieron por infarto de miocardio, y por lo tanto subestimar la prevalencia del alelo 62I. Los resultados de nuestro estudio apuntan que el alelo 62I podría favorecer la expresión trombotica en un subgrupo de pacientes jóvenes portadores de la mutación factor V Leiden o de la G20210A de la protrombina, probablemente mediante una interacción diferencial del alelo 62I con P-selectina que diera lugar a la generación de micropartículas a escala local y contribuir de esta manera al desarrollo de la trombosis.

En referencia al polimorfismo VNTR de PSGL-1, algunos estudios experimentales apuntan que los alelos de menor tamaño tendrían una menor capacidad de unión a plaquetas activadas (14). En esta línea, y desde el punto de vista clínico, los alelos más cortos (B y C) del polimorfismo VNTR se han asociado con un menor riesgo de enfermedad cerebrovascular aunque no con enfermedad cardiovascular o trombosis venosa profunda (14, 22). Estos resultados en trombosis venosa estarían en consonancia con la ausencia de relación de dicho polimorfismo con la trombosis que hemos hallado en nuestra serie.

La P-selectina, tiene un gen muy polimórfico, pero únicamente el polimorfismo Thr715Pro se

Tàssies Penella M.D., Monteagudo Terres J., Reverte Calatayud J.C.

Selectinas, factor tisular y trombosis venosa

ha asociado al riesgo de infarto de miocardio en algunos estudios con resultados no coincidentes (8-10). El alelo 715Pro se ha relacionado con el riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con hipercolesterolemia en un estudio (10), mientras que contrariamente en otros estudios el alelo 715Pro se ha relacionado con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular (8, 9). En modelos animales se ha señalado la importancia de la P-selectina también en la trombogénesis venosa (5, 6). Sin embargo, en nuestro estudio no hallamos relación del polimorfismo Thr715Pro con las trombosis venosas en pacientes jóvenes. El polimorfismo Thr715Pro se ha relacionado también con los niveles plasmáticos de P-selectina soluble (11, 12), forma que se origina por proteólisis de la P-selectina expresada en las plaquetas. Los niveles de P-selectina soluble plasmática se han relacionado también con el riesgo trombótico (21). Los resultados de nuestro estudio confirman la relación del polimorfismo Thr715Pro con los niveles de P-selectina soluble, siendo el genotipo Thr/Thr el que se asocia a los niveles más altos.

El factor tisular asociado a micropartículas circulantes es la principal fuente de este componente en el desarrollo de la fase de amplificación de un coágulo normal (1). Se ha apuntado que los niveles plasmáticos de factor tisular podrían estimar

de una forma indirecta la cantidad relativa de micropartículas ya que se ha hallado un incremento de factor tisular circulante en determinados estados protrombóticos. Se ha sugerido que el polimorfismo I/D puede determinar la unión más o menos eficiente de factores de transcripción a la región -1208 determinando la expresión de factor tisular en células endoteliales (19), en monocitos (23) y los niveles plasmáticos del mismo (15).

En nuestro estudio no hemos hallado relación de los niveles de factor tisular con las trombosis venosas ni con el polimorfismo -1208I/D. Sin embargo, este resultado no excluye la formación de micropartículas y de factor tisular soluble a escala local en el momento y en el lugar de formación del trombo, fenómeno que no sería detectable con la metodología utilizada. El polimorfismo -1208I/D se ha asociado tanto a tromboembolismo venoso (15) como a infarto de miocardio (16), sin embargo, en nuestro trabajo no se ha confirmado la existencia de relación del polimorfismo -1208 I/D con la trombosis venosa.

En conclusión, el polimorfismo M62I de PSGL-1 podría modular la expresión trombotica en pacientes portadores de otras alteraciones causantes de trombofilia. Estos resultados deberán ser confirmados en estudios independientes que incluyan un mayor número de pacientes.

Referencias bibliográficas

- Chou J, Mackman N, Merrill-Skoloff G, Pedersen B, Furie BC, Furie B. Hematopoietic cell-derived microparticle tissue factor contributes to fibrin formation during thrombus propagation. *Blood*. 2004; 104: 3190-397.
- Falati S, Liu K, Gross P, Merrill-Skoloff G, Chou J, Vandendries E et al. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp Med*. 2003; 197: 1585-1598.
- Chirinos JA, Heresi GA, Velasquez H, Jy W, Jimenez JJ, Ahn E et al. Elevation of endothelial microparticles, platelets, and leukocyte activation in patients with venous thromboembolism. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1467-1471.
- Polgar J, Matuskova J, Wagner DD. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1590-1596.
- Myers DD, Hawley AE, Farris DM, Wroblewski SK, Thanaporn P, Schaub RG et al. P-selectin and leukocyte microparticles are associated with venous thrombogenesis. *J Vasc Surg* 2003; 38: 1075-1089.
- Myers DD, Rectenwald JE, Bedard PW, Kaila N, Shaw GD, Schaub RG et al. Decreased venous thrombosis with an oral inhibitor of P selectin. *J Vasc Surg* 2005; 42: 329-336.
- Viles-Gonzalez J, Fuster V, Badimon JJ. Thrombin/inflammation paradigms: a closer look at arterial and venous thrombosis. *Am Hear J* 2005; 149:s19-31.
- Herrmann SM, Ricart S, Nicaud V, Mallet C, Evans A, Ruidavets JB et al. The P-selectin gene is highly polymorphic: reduced frequency of the Pro715 allele carriers in patients with myocardial infarction. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1277-84.
- Kee F, Morrison C, Evans AE, McCrum E, McMaster D, Dallongeville J et al. Polymorphisms

of the P-selectin gene and risk of myocardial infarction in men and women in the ECTIM extension study. *Etude cas-témoin de l'infarctus myocarde*. Heart 2000; 84: 548-52.

10. Bugert P, Vosberg M, Entelmann M, Jahn J, Katus HA, Klüer H. Polymorphisms in the P-selectin (CD62P) and P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) genes and coronary heart disease. *Clin Chem Lab Med*. 2004; 42: 997-1004.

11. Carter AM, Anagnostopoulou K, Mansfield MW, Grant PJ. Soluble P-selectin levels, P-selectin polymorphisms and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost*. 2003; 1: 1718-23.

12. Barbaux SC, Blankenberg S, Rupprecht HJ, Francomme C, Bickel C, Hafner G et al. Association between P-selectin gene polymorphisms and soluble P-selectin levels and their relation to coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21: 1668-73.

13. Afshar-Kharghan V, Diz-Küçükaya R, Ludwig EH, Marian AJ, López JA. Human polymorphisms of P-selectin glycoprotein ligand 1 attributable to variable number of tandem decameric repeats in the mucinlike region. *Blood* 2001; 97: 3306-7.

14. Lozano ML, Gonzalez-Conejero R, Corral J, Rivera J, Iniesta JA, Martinez C et al. Polymorphisms of P-selectin glycoprotein ligand-1 are associated with neutrophil-platelet adhesion and with ischaemic cerebrovascular disease. *Br J Haematol* 2001; 115: 969-76.

15. Arnaud E, Barbalat V, Nicaud V, Cambien F, Evans A, Morrison C, et al. Polymorphisms in the 5' regulatory region of the tissue factor gene and the risk of myocardial infarction and venous thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 892-8.

16. Ott I, Koch W, von Beckerath N, de Waha R, Malawaniec A, Mehilli J et al. Tissue factor promoter polymorphism -603 A/G is associated

with myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2004; 177: 189-91.

17. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost*. 1995; 74: 1185-1190.

18. Tregouet DA, Barbaux S, Poirier O, Blankenberg S, Bickel C, Escolano S et al. SELPLG gene polymorphisms in relation to plasma SELPLG levels and coronary artery disease. *Ann Hum Genet* 2003; 67: 504-11.

19. Terry CM, Kling SJ, Cheang KI, Hoidal JR, Rodgers M. Polymorphisms in the 5'-UTR of the tissue factor gene are associated with altered expression in human endothelial cells. *J Thromb Haemost*. 2004; 2: 1351-8.

20. Yang J, Hirata T, Croce K, Merrill-Skoloff G, Tchernychev B, Williams E et al. Targeted gene disruption demonstrates that P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is required for P-selectin mediated but no E-selectin mediated neutrophil rolling and migration. *J Exp Med* 1999; 190: 769-82.

21. Andre P, Hartwell D, Hrachovinova I, Saffaripour S, Wagner D. Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13835-40.

22. Bugert P, Hoffmann MM, Winkelmann BR, Vosberg M, Jahn J, Entelmann M et al. The variable number of tandem repeat polymorphism in the P-selectin glycoprotein ligand-1 gene is not associated with coronary heart disease. *J Mol Med*. 2003; 81: 495-501.

23. Reny JL, Laurendeau I, Fontana P, Bieche I, Dupont A, Remones V et al. The TF-603A/G gene promoter polymorphism and circulating monocyte tissue factor gene expression in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 2004; 91: 248-54.

Departamento de Psicología Social. Facultad de Psicología. Universidad de Sevilla.

Evaluación del estrés laboral del personal universitario

Labor stress evaluation of the university personnel

León Rubio J.M., Avargues Navarro M.L.

RESUMEN

Objetivos: Se realizó la evaluación de los riesgos psicosociales en la Universidad de Sevilla para establecer la prevalencia del estrés laboral, identificar los factores de la organización del trabajo que lo desencadenan y las variables demográficas y laborales que influyen en la propensión del personal a experimentarlo, valorar sus consecuencias y formular recomendaciones de cara a su control.

Material y método: Una muestra de 315 casos representativos de todo el personal de la Universidad de Sevilla, de forma voluntaria e individual, fueron evaluados mediante la Escala Laboral de Estrés, el Inventario «Burnout» de Maslach y la Escala Magallanes de Estrés.

Resultados: La prevalencia del estrés laboral y del síndrome «Burnout» fue alta (14 y 13% respectivamente). La falta de recursos, la sobrecarga de trabajo, el conflicto y la ambigüedad de rol, y la superespecialización fueron los determinantes de dichas experiencias. La edad, el estado civil, el número de hijos, el sector en el que se trabaja y la experiencia influyeron sobre la propensión a tener estas experiencias, cuyas consecuencias sobre la salud fueron de carácter negativo.

Conclusiones: Se formulan recomendaciones dirigidas al desarrollo de programas de gestión y control del estrés laboral específicos para cada tipo de personal.

Palabras clave:

Evaluación de riesgos, factor psicosocial, estrés, burnout, personal universitario, prevalencia, organización del trabajo, susceptibilidad, daños a la salud, prevención.

ABSTRACT

Objectives: The evaluation of the psychosocial risks was made in the University of Seville to establish the prevalence of occupational stress, to identify the factors of the work organization that trigger it and the demographic and labor variables that influence in the susceptibility of the personnel to experience it, to value their consequences and to formulate recommendations facing their control.

Material and method: A sample of 315 representative cases of all the personnel of the University of Seville, of voluntary and individual form, was evaluated by means of the Labor Scale of Stress, the Maslach «Burnout» Inventory and the Magallanes Scale of stress.

Results: The prevalence of labor stress and the syndrome «Burnout» was high (14 and 13% respectively). The lack of resources, the overload of work, the conflict and the ambiguity of role, and the superspecialization was the determinants of these experiences. The age, the civil state, the number of children, the sector at which one is working and the experience influenced the susceptibility to have these experiences, whose consequences on the health were of negative character.

Conclusions: Recommendations directed to the development of programs of management and specific control of labor stress for each type of personnel are formulated.

Key words:

Risks assessment, psychosocial factor, stress, burnout, university staff, prevalence, work organization, susceptibility, health problems, prevention.

INTRODUCCIÓN

Sobre la base de que los riesgos psicosociales son el resultado de la interacción de las características de la organización del trabajo con las necesidades, habilidades y expectativas del trabajador, y asumiendo que éstos pueden afectar de forma negativa a la salud de los trabajadores a través de distintos

Correspondencia:
J. M. León Rubio
Facultad de Psicología. Universidad de Sevilla
Avda. San Francisco Javier, s/n. 41018 Sevilla.
jmleon@us.es

Beca de investigación FUNDACIÓN MAPFRE

mecanismos (emocionales, cognoscitivos y de comportamiento) relacionados entre sí, y denominados de forma general y conjunta con el término estrés, se realizó la evaluación de los riesgos psicosociales en la Universidad de Sevilla (US), con los siguientes objetivos concretos:

1. Determinar la prevalencia del estrés laboral.
2. Identificar los factores de la organización del trabajo que actúan como determinantes del estrés laboral.
3. Reconocer las variables demográficas y laborales del personal, tanto docente e investigador (PDI) como de administración y servicios (PAS), que influyen en un aumento de su propensión a experimentar estrés laboral.
4. Valorar las consecuencias del estrés laboral.
5. Formular recomendaciones de cara a facilitar la toma de decisiones respecto a la evaluación, prevención y control del estrés laboral en dicha institución de enseñanza.

Son muchas las razones que se pueden esgrimir para justificar el análisis de esta temática: En primer lugar, la valoración de este riesgo de carácter psicosocial es un requisito para la planificación de la acción preventiva, tal y como establece la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales (v. Art. 16.1.) y el Real Decreto 39/1997 de enero, en el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención (v. Art. 3). En segundo lugar, el estrés laboral es uno de los riesgos emergentes o psicosociales más importantes, tanto por su extensión como por la gravedad de sus consecuencias para la salud de los trabajadores (1-3). En tercer lugar, desde hace veinticinco años, el sistema universitario español vive inmerso en una situación de cambio que demanda de sus empleados esfuerzos de adaptación significativos, con recursos limitados (4), lo que constituye el caldo de cultivo idóneo para la emergencia de factores de riesgo psicosocial como el estrés. Entre tales transformaciones cabe señalar los cambios legislativos, la creciente demanda de estudios superiores, el inicio del proceso de convergencia hacia el espacio europeo de enseñanza superior, etc. Además, este asunto supone también un reto de carácter científico-técnico, en el plano teórico y aplicado. En el plano teórico porque son numerosos los modelos y conocimientos de la Psicología Social (nuestra área de especialización) que se pueden

poner a prueba (5-6). En el plano aplicado porque la escasez de estudios empíricos al respecto implica un desconocimiento de los determinantes del estrés laboral en el contexto universitario, así como la necesidad de desarrollar técnicas válidas y fiables para la valoración de los riesgos psicosociales y la exposición a los mismos.

En nuestro país, la investigación sobre estrés laboral en el sector educativo se ha centrado sobre todo en los niveles primario y secundario (7), siendo escasos los estudios sobre el estrés laboral en el ámbito universitario (8), lo que parece ser una tónica internacional (9), con toda probabilidad debido a la consideración de la docencia universitaria como una ocupación con bajo nivel de estrés, pues se parte del presupuesto de que el profesor universitario dispone de estabilidad, baja carga de trabajo, libertad para proponer sus propios intereses de investigación y flexibilidad horaria (10). Asimismo, se cree que los estudiantes universitarios están más interesados que los de otros niveles educativos en lo que estudian, por lo que se supone que las relaciones entre profesores y alumnos son menos problemáticas que en el resto de los niveles educativos (11). Sin embargo, el escenario de transformaciones descrito antes y los resultados de la escasa investigación realizada sobre el tema no parecen refrendar estos puntos de vista, más bien sugieren que la prevalencia del estrés entre el personal universitario es alta (incluso más elevada que la registrada en otras profesiones), y que se trata de una experiencia intensa y frecuente, cuya progresión es muy significativa (12-15).

En fin, existen importantes razones que justifican los objetivos propuestos y la evidencia empírica suficiente para pensar, con fundamento, que su logro es necesario.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población estuvo constituida por todo el personal de la US, dividido en dos estratos o sectores: PDI y PAS. Se distribuyeron 720 encuestas, según un procedimiento de muestreo por conglomerados y etapas, con selección aleatoria de las unidades primarias de muestreo (centros docentes y de gestión) y por rutas aleatorias y afijación proporcional de las unidades últimas o personas encuestadas, y se recogieron 315 válidas; 194 (61,59%) pertenecien-

tes al PDI y 121 (38,41%) al PAS, que en términos porcentuales no suponen variaciones significativas respecto al tamaño de estos sectores dentro de la población (el 63% y el 37% respectivamente).

La tasa de respuesta fue, por tanto, del 43,75%, muy superior a la obtenida en otras investigaciones similares realizadas en España (8) y parecida a la informada en estudios internacionales (1 y 3).

La probabilidad de que el encuestado presentara el atributo (estrés o síndrome de burnout) se estableció en el 28%, de acuerdo con los resultados obtenidos en la III Encuesta Europa sobre Condiciones de Trabajo y Salud (16). Por tanto, el error muestral fue del 4,93%, para un nivel de confianza del 95,5%.

Todos las personas encuestadas participaron de forma voluntaria en el estudio, las principales características de la muestra se describen en la Figura 1.

Instrumentos

Cuestionario de datos sociodemográficos

Elaborado al efecto, consta de 12 preguntas. Ocho de identificación de las características sociola-

borales, de las cuales tres son de respuesta abierta (edad, antigüedad en la empresa y centro en el que trabaja) y cinco son de respuesta cerrada (sexo, estado civil, nivel profesional, categoría de personal y relación contractual). Tres sobre hechos concretos de naturaleza sociodemográfica que se responden de forma abierta (tener hijos, cuántos y con cuántos convive) y, por último, una en la que se solicita una clave de 8 dígitos con el fin de asegurar el anonimato del encuestado.

Escala Laboral de Estrés (ELE)

Escala elaborada por Fernández Ríos (17) para la evaluación de aspectos relacionados con la actividad laboral que son estresantes en potencia, consta de 49 preguntas categóricas con siete opciones de respuesta que van desde «Totalmente falso» hasta «Totalmente cierto», pasando por «Ni correcto, ni incorrecto». La estructura subyacente de la escala original refleja cinco factores:

► **Sobrecarga.** Entendida como tener «mucho que hacer» (v.g., «Tengo exceso de trabajo») y como «falta de tiempo» para realizar el trabajo encomendado (v.g., «Necesitaría disponer de

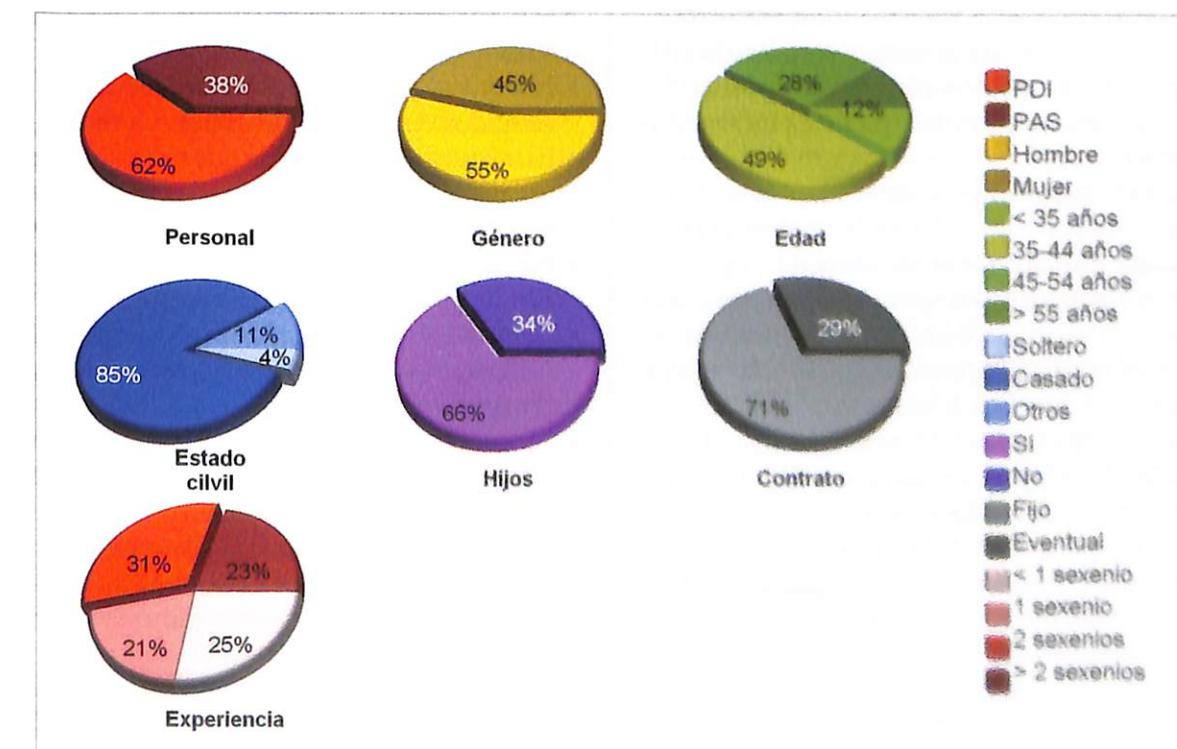


Fig. 1. Descripción de la muestra.

más tiempo para poder realizar todas las tareas asignadas»).

- **Conflict de rol.** Concebido como demandas conflictivas o contradictorias (v.g., «A menudo me encuentro en situaciones en las que me exigen comportamientos contradictorios») o como la realización de tareas de modo contrario a los deseos y criterios propios (v.g., «A veces se me exige un comportamiento en el desempeño de mi trabajo que va en contra de mis criterios personales»).
- **Superespecialización** o creer que se posee una capacitación superior a la exigida por las tareas a realizar en el trabajo (v.g., «Mis habilidades y conocimientos son mucho más elevados de los que se requieren para el puesto que desempeño»).
- **Incompetencia** o sentimiento de no estar capacitado para desarrollar con éxito las actividades propias del puesto (v.g., «En algunas circunstancias creo no estar capacitado para el puesto que desempeño»).

- **Ambigüedad de rol.** Información inadecuada o poco clara acerca de los objetivos asociados con un rol (v.g., «No están claros los objetivos y las metas asignadas a mi trabajo»), sobre las expectativas de los otros respecto de ese rol (v.g., «Desconozco los criterios a través de los cuales se me evaluará para un ascenso o incremento laboral»), y acerca de su alcance y responsabilidades (v.g., «Desconozco cuáles son las posibilidades y las oportunidades para progresar o ascender»).

A éstos, hay que añadir la dimensión falta de recursos para realizar con eficacia las tareas propias del puesto de trabajo que se desempeña (v.g., «No dispongo de los materiales técnicos necesarios para realizar mi trabajo»), obtenida en los análisis de componentes principales realizados para la utilización de esta escala en este estudio.

Inventario de Burnout de Maslach (MBI).

Se trata de la adaptación española del conocido inventario de Maslach y Jackson (18), realizada por Seisdedos (19) para TEA Ediciones. Lo conforman 22 elementos de respuesta cerrada que estiman la frecuencia, desde «Nunca» hasta «Todos los días», con que se experimenta en el trabajo determinados sentimientos y actitudes que sirven para evaluar las tres dimensiones del síndrome de burnout o estrés laboral asistencial: cansancio emocional, despersonalización o frialdad hacia los receptores de los ser-

vicios y realización personal o sentimientos de competencia y éxito en el trabajo.

Escala Magallanes de Estrés (EMEST)

Elaborada bajo la dirección de García y Magaz (20) para el Grupo ALBOR-COHS, consta de 15 elementos, cada uno de los cuales hace referencia a una alteración funcional «menor» sobre la cual la persona en evaluación debe indicar su frecuencia durante los dos últimos años, desde «Nunca» hasta «Muchas veces». Por separado, ninguna de ellas es indicadora de estrés, pero su acumulación y una alta frecuencia pueden interpretarse como un signo de que la persona se encuentra bajo estrés. Por tanto, esta prueba evalúa, en concreto, alteraciones fisiológicas comúnmente aceptadas como «reacciones al estrés».

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prevalencia y determinantes del estrés laboral y del síndrome de burnout

Los valores promedio de cada una de las subescalas de la ELE se categorizaron en tres niveles de estrés laboral según la graduación de las respuestas a sus ítem, esto es:

- **Nivel 1. Estrés leve.** Comprende los promedios incluidos desde el valor mínimo hasta el 3 y clasifica aquellos casos de la muestra que suelen responder de forma negativa a los indicadores de estrés laboral.
 - **Nivel 2. Estrés moderado.** Abarca los promedios del rango de valores iguales o superiores a 3 e inferiores a 5 y clasifica los casos de la muestra que responden con indecisión y duda a los indicadores de estrés laboral.
 - **Nivel 3. Estrés agudo.** Contiene los promedios con un valor igual o superior a 5, clasificando así, los casos de la muestra que responden de forma afirmativa a los indicadores de estrés laboral.
- En la Figura 2, se presentan las distribuciones porcentuales de estos niveles para cada una de las subescalas de la ELE.
- Considerando como criterio el nivel de estrés agudo, la prevalencia del estrés laboral en la US oscila entre el 28% de la subescala falta de recursos y el 1% de la de incompetencia, siendo el promedio de

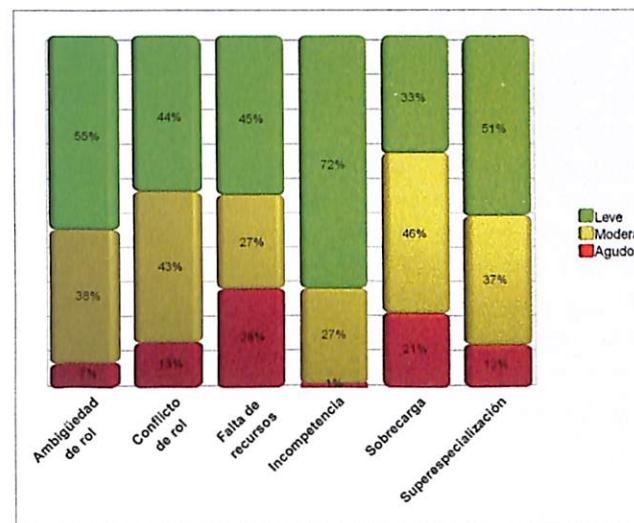


Fig. 2. Distribuciones porcentuales de los niveles de estrés laboral.

las seis subescalas, de forma aproximada, el 14%. Porcentaje más bajo que los obtenidos en otras encuestas realizadas en el ámbito universitario (13-15). No obstante, hay que llamar la atención sobre el hecho de que en estos estudios se toma como criterio de referencia los niveles moderados de estrés, en lugar de los agudos. Cuando se emplea un criterio tan exigente como el utilizado en este caso, los porcentajes de prevalencia del estrés laboral descenden hasta el 10% (21). Porcentaje que es superado en cuatro de las seis dimensiones de estrés laboral examinadas; en concreto, junto con la falta de recursos, ya mencionada, hay que señalar las dimensiones conflicto de rol, sobreexplotación y superspecialización. Además, la prevalencia promedio obtenida dobla a la registrada en la población trabajadora española, según la IV Encuesta Nacional de Condiciones de Trabajo. La consecuencia lógica de todo ello, es que la prevalencia del estrés laboral en la US es elevada.

En cuanto a la prevalencia del síndrome de burnout, el porcentaje de encuestados que presentan, de forma conjunta, las tres características del mismo y, por consiguiente, pueden clasificarse como quemados según el sistema de categorización tripartita propuesto por Maslach y Jackson (18) es del 13%, algo menor que el porcentaje obtenido en otros estudios; sin embargo, el criterio de clasificación empleado en éstos es menos exigente, la condición suficiente fue puntuar alto en al menos dos di-

mensiones del síndrome (8 y 22). Por tanto, los resultados obtenidos permiten afirmar que la prevalencia del síndrome de burnout es también alta entre los trabajadores de la US.

Por lo que respecta a los determinantes del estrés laboral en la US, los datos obtenidos, representados en la Figura 2, ponen en evidencia que éstos son, por orden de ocurrencia:

- La falta de recursos para dar respuesta a las exigencias del trabajo, hallazgo que coincide con los obtenidos en otros estudios realizados en el ámbito universitario, en los que se concluye que esto es una consecuencia lógica de la aplicación de políticas económicas restrictivas (13-15).
- La sobrecarga o exceso de trabajo por distintos motivos: demasiadas horas de trabajo, excesivo número de tareas, insuficiencia de tiempo para dar respuesta a las demandas del trabajo y presiones temporales (fechas límite) para realizar las tareas encomendadas. Todo lo cual, supone un sobreesfuerzo que origina la solicitud de más recursos humanos, siendo numerosos los estudios que han obtenido resultados similares (v.g., 3, 15 y 23).
- El conflicto de rol. Son numerosas las situaciones en las que se le exige al personal universitario, sobre todo a los docentes, el desempeño de roles que implican comportamientos y actitudes distintas o contradictorias entre sí. Por ejemplo, se le requiere un doble lenguaje para hablar de aquello en lo que es experto; uno para comunicarse con los colegas y otro para dirigirse a los alumnos; es decir, se le pide una forma doble de relacionarse con su objeto de conocimiento, lo que en sí mismo es una contradicción y condición suficiente para producir tensión (24).
- La superspecialización o poseer habilidades y conocimientos superiores a los requeridos para el desempeño del puesto de trabajo. No se conocen estudios en los que este factor aparezca como un determinante significativo del estrés laboral en la universidad. Es posible que ello sea debido a que la mayoría de los trabajos realizados centran su atención en el examen del estrés docente y pudiera ser que este factor no tuviese un efecto significativo sobre el mismo o que dicho efecto fuese diferencial respecto a la clase de personal, hipótesis que se somete a verificación más adelante.

La ambigüedad de rol como resultado de la carencia de sistemas de evaluación del rendimiento y de promoción, transparentes y objetivos, lo que suele generar imprecisiones y contradicciones, además de las lógicas reservas, respecto a las funciones que debe desempeñar la persona que ocupa un puesto de trabajo concreto, lo que, a su vez, origina numerosas situaciones de tensión laboral (25).

Estos resultados parecen apoyar el modelo de estrés laboral de demanda-control de Karasek (26), dado que los factores que se han mostrado como determinantes del estrés laboral están relacionados con el exceso de demandas (v.g., sobrecarga) y la falta de control (v.g., falta de recursos); de manera que, al igual que en otros estudios (12, 14-15), lo hallado parece indicar que la combinación de una demanda alta con un control bajo da como resultado un aumento de la tensión y el estrés laboral.

Factores de vulnerabilidad al estrés

Se realizaron distintos análisis secuenciales de la varianza o Detención Automática de Interacciones (AID), utilizando como criterio los promedios de las subescalas de la ELE y de la clasificación tripartita del MBI, y como variables predictoras los parámetros demográficos y laborales registrados. Así, la muestra fue segmentada en grupos homogéneos según sus promedios en las variables criterio indicadas. En la Tabla 1, se presentan los perfiles de los segmentos o grupos de trabajadores de la US que obtuvieron, de forma significativa, los

promedios más altos, y aunque sólo son indicativos de estrés los correspondientes a la falta de recursos y sobrecarga, los porcentajes de prevalencia de estrés agudo registrado en el resto son tan elevados, excepto en el factor incompetencia, que con esta salvedad bien podría decirse que estos grupos son los de mayor vulnerabilidad al estrés laboral y síndrome de burnout.

A continuación, se realizaron distintos Análisis de Clasificación Múltiple (ACM) tomando como factores explicativos las variables demográficas y laborales que caracterizan los perfiles de los grupos o segmentos obtenidos con el AID, estableciendo así cuáles de estas variables y qué categorías de las mismas predicen las puntuaciones de estrés laboral y burnout y, por consiguiente, una mayor vulnerabilidad a estos fenómenos. En la Tabla 2, se muestran aquellas variables y las categorías de las mismas que, según sus coeficientes de impacto (2), fueron más eficaces para predecir los valores de estrés laboral y burnout.

En términos generales, los datos resumidos en la Tabla 2 están en línea con lo informado en la literatura pertinente. Respecto a la edad, son las personas más jóvenes las que muestran más estrés laboral y burnout, con mucha probabilidad porque al carecer de experiencia laboral suelen experimentar más inseguridad y falta de confianza en sí mismas para el desempeño laboral (v.g., 27), al tiempo que perciben más desajustes entre demandas laborales y recursos para hacerles frente, lo que explicaría sus puntuaciones altas en sobrecarga y superespecialización (o infracarga). Todo lo cual, se ve incremen-

TABLA 2. Variables demográficas y profesionales predictoras de estrés y burnout

Variables	ELE					MBI
	Ambigüedad de rol	Conflictos de rol	Falta de recursos	Incompetencia	Sobrecarga	
Edad (años)	< 35 (0.12)					< 35 (0.17) 35-44 (0.14)
E. Civil						Viudedad (0.59) Soltería (0.10)
Nº hijos	Ninguno (0.16)					
Nº hijos en el hogar						
Personal	PAS ¹ (0.15)		PDI ² (0.21)			PAS (0.52)
Experiencia en sexenios	1 (0.20)	2 (0.24)	3 (0.42)	4 (0.22)	2 (0.35)	

¹ Personal de Administración y Servicios.

² Personal Docente e Investigador.

tado por la eventualidad de sus contratos; se halló una asociación significativa entre tipo de contrato y rango de edad, con un valor de chi-cuadrado igual a 41.81, para 4 grados de libertad y una probabilidad de error inferior a 0.01; de manera, que la proporción de personas con un contrato eventual era mayor en el menor rango de edad (21-34 años).

El que la edad sea eficaz para predecir tanto los valores de sobrecarga como los de superespecialización (o infracarga) no es un hecho contradictorio, esto es debido a que su efecto sobre tales puntuaciones de estrés laboral está mediado por el parámetro «tipo de personal», como se pone de relieve en la Tabla I; es decir, mientras que el PDI puntúa más alto en sobrecarga, el PAS lo hace en superespecialización, cumpliéndose así las expectativas de Daniels y Guppy (28), respecto a que nadie escapa al estrés laboral en el ámbito universitario.

Esto puede ser interpretado del siguiente modo: las personas jóvenes que pertenecen al PDI deben hacer grandes esfuerzos porque sus demandas laborales incluyen, no sólo las propias de sus contratos eventuales como docentes, sino también el desarrollo de su currículo investigador para optar a un concurso-oposición de una plaza más estable y mejor remunerada. Esfuerzos éstos que, en la mayoría de los casos, hay que hacerlos sin los recursos materiales suficientes, bajo una constante presión (sus contratos se renuevan anualmente) y en las peores condiciones laborales (malos horarios de clase, en distintos centros, muy distantes entre sí, etc.). Por último, en cuanto al estrés laboral por superespecialización experimentado por el PAS, debe señalarse

que la preparación de los jóvenes que acceden al mismo es cada día más elevada y, por supuesto, superior a la requerida para el desempeño de las tareas asociadas a los puestos laborales que son cubiertos por este tipo de personal.

Aunque la edad correlaciona de forma significativa con la experiencia laboral ($r=0.6682$, $p<0.01$), y los datos obtenidos parecen indicar que las personas más inexpertas son las que tienen una mayor probabilidad de sentir estrés laboral. No obstante, personas con una amplia experiencia laboral (3 y 4 sexenios) también experimentaron estrés por falta de recursos e incompetencia para el desempeño del puesto laboral. Este primer hallazgo no sorprende porque tiene una fácil explicación: la mayoría de ellas pertenecen al PDI, y esto relacionado con lo ya expresado sobre la edad, quiere decir que personas de distinta edad sometidas a las mismas condiciones laborales perciben idéntico estrés laboral. El segundo, aunque poco frecuente, es insignificante; pues sólo uno de los tres casos de la muestra que obtuvieron puntuaciones de estrés laboral agudo por incompetencia estaba incluido en el rango de cuatro sexenios. Además, la asociación entre incompetencia y reacciones fisiológicas de estrés, medidas de forma categórica, no fue significativa. Por tanto, podría decirse que este resultado no responde a ninguna tendencia significativa de este sector de la población estudiada.

El resto de las variables (estado civil e hijos), como ya se ha dicho, se comportaron conforme a lo establecido en la literatura pertinente; esto es: aquellas de sus categorías que suponen estabilidad emo-

TABLA 1. Perfiles de los segmentos de mayor vulnerabilidad al estrés y burnout

Escala	Factores	Perfiles	ELE				MBI
			N	Media	Desv. Típica	% Preva. ¹	
ELE	Falta de recursos	PDI; 3 sexenios.	18	4.44	1.70	60.00	
	Sobrecarga	PDI; < 1 y entre 2-3 sexenios; Soltero/a.	42	4.19	1.27	45.24	
	Conflictos de rol	1 y 2 sexenios, < 45 años de edad.	117	3.22	1.47	19.00	
	Superespecialización	PAS; < 45 años de edad.	98	3.85	1.36	27.27	
	Ambigüedad de rol	1 y 2 sexenios; < 35 años de edad.	31	3.79	1.04	20.00	
	Incompetencia	≤ 1, 2 y 4 sexenios; Soltero/a, casado/a o pareja de hecho	260	2.28	0.82	0.66	
MBI	Clasificación tripartita ²	Contrato fijo; Viuda; Soltera y Separada o Divorciada; Mujer	11	0,36	0.23	26,86	

¹ Según el caso, porcentaje de prevalencia del estrés agudo y prevalencia relativa del síndrome de burnout.

² Cansancio emocional y despersonalización alta, realización personal baja.

TABLA 3. Matriz de coeficientes de correlación simple entre ELE¹, MBI² y EMEST³

Variables	ELE						MBI DP	EMEST			
	AR	CR	FR	IN	SB	SP	CE				
ELE	AR ⁴	1.0	.55	.28	.38	.30	.39	.40	.18	-.16	.27
	CR	.55	1.0	.47	.42	.49	.36	.52	.28	-.19	.40
	FR	.28	.47	1.0	.21	.37	.18	.29	.13	(-.04)	.23
	IN	.38	.42	.21	1.0	.49	.12	.45	.35	-.30	.29
	SB	.30	.49	.37	.49	1.0	(-.01)	.57	.28	-.15	.39
MBI	SP	.39	.36	.18	.12	(-.01)	1.0	.28	.16	-.18	.19
	CE	.40	.52	.29	.45	.57	.28	1.0	.44	-.29	.64
	DP	.18	.28	.13	.35	.28	.16	.44	1.0	-.31	.21
	RP	-.16	-.19	(-.04)	-.30	-.15	-.18	-.29	-.31	1.0	-.30
EMEST		.27	.40	.23	.29	.39	.19	.64	.21	-.30	1.00

¹ Escala Laboral de Estrés.² Inventario de Burnout de Maslach.³ Escala Magallanes de Estrés.⁴ (AR) Ambigüedad de rol, (CR) Conflicto de rol, (FR) Falta de recursos, (IN) Incompetencia, (SB) Sobrecarga, (SP) Superespecialización, (CE) Cansancio emocional, (DP) Despersonalización y (RP) Realización personal.

cional y mayor disponibilidad de apoyo social predicen niveles bajos de estrés laboral, y al contrario, las que no presumen tales factores (29).

Consecuencias del estrés laboral y del síndrome de burnout.

En la Tabla 3, se presenta la matriz de coeficientes de correlación simple entre las distintas medidas de estrés laboral, burnout y alteraciones fisiológicas. Salvo los coeficientes expresados entre paréntesis, todos los demás son significativos para una probabilidad de error inferior a 0,05.

Como era de esperar: Primero, se obtuvieron relaciones significativas de carácter positivo entre las puntuaciones de estrés laboral y las mediciones de cansancio emocional y despersonalización, y de carácter negativo con las de realización personal, aunque en el caso del estrés laboral por falta de recursos y realización personal la relación no es significativa. Segundo, los valores de las alteraciones funcionales correlacionaron de forma significativa y positiva con las puntuaciones de estrés laboral, cansancio emocional y despersonalización, y de manera negativa con las de realización personal.

Lo expuesto, sugiere que es necesario desarrollar programas de gestión y control del estrés laboral específico para cada tipo de personal. En el caso del Personal Docente e Investigador recomendamos:

Impulsar programas de sensibilización sobre el estrés, orientados al reconocimiento de sus causas, síntomas y consecuencias más características.

- El adiestramiento en técnicas de perfeccionamiento de la organización del espacio de trabajo.
- Consejo en procedimientos de análisis de las pautas de trabajo estresantes.
- Formación y asesoramiento en técnicas de gestión del tiempo.
- Implantación de equipos de apoyo a la docencia y la investigación. Dichos equipos deberían estar conformados por analistas, traductores, diseñadores gráficos, etc.
- Fomento de los programas de incorporación a la función docente con el apoyo y tutelaje de profesores experimentados.
- Incrementar el apoyo material y financiero a las iniciativas innovadoras que representen formas de adaptación a los cambios experimentados por la enseñanza superior en los últimos años.
- Revisar las prácticas y procedimientos burocráticos y administrativos con la voluntad de reducirlos y simplificarlos, sobre todo, los relacionados con la justificación de sus currícula y convocatorias públicas para la formulación y desarrollo de proyectos de investigación.
- Para el caso del Personal de Administración y Servicios nuestras recomendaciones buscan, de forma fundamental, el enriquecimiento del puesto de trabajo. Entre ellas, destacamos:
 - Aumentar la participación en la toma de decisiones sobre aquellos aspectos relativos a las propias tareas.
 - Incrementar la influencia del trabajador en las decisiones de su equipo o unidad.

Referencias bibliográficas

1. Dua JK (1994). Job stressors and their effects on physical health, emotional health, and job satisfaction in a university. *Journal of Educational Administration*, 32, 59-78.
2. Sharpley CF, Reynold R, Acosta A, Dua JK (1996). The presence, nature and effects of job stress on physical and psychological health at a large Australian University. *Journal of Educational Administration*, 34, 73-86.
3. Taris TW, Schreurs PJG, Van Iersel-Van Silfhout HJ (2001). Job stress, job strain, and psychological withdrawal among Dutch university staff: towards a dual process model for the effects of occupational stress. *Work & Stress*, 15 (4), 283-296.
4. Hernández Armenteros J. (2004). La universidad española en cifras (2004). Madrid: Crue.
5. Peiró JM. (2001). El estrés laboral: una perspectiva individual y colectiva. *Revista del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo*, 13, 18-38.
6. Guillén Gestos C., Muñoz Colera AM (2002). Estrés laboral. Concepto y modelos. En T. Fernández García y A. Ares Parra (Coord.), *Servicios sociales: Dirección, gestión y planificación*. Madrid: Alianza, 185-212.

7. Manassero Mas MA, García Buades E, Vázquez Alonso A, Ferrer Pérez V, Ramis Palmer C, Gili Planas M. (2000). Análisis causal del burnout en la enseñanza. *Revista de Psicología del Trabajo y de las Organizaciones*, 16 (2), 173-195.
8. Guerrero Barona E., Vicente Castro F. (2001). Síndrome de burnout o desgaste profesional y afrontamiento del estrés en el profesorado. Cáceres: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Extremadura.
9. García Villamizar D, Freixas Guinjoan T. (2003). El estrés del profesorado. Una perspectiva internacional. Valencia: Promolibro.
10. Schreurs PJG y Taris TW. (1998). Construct validity of the demand-control model: A double cross-validation approach. *Work and Stress*, 12, 66-84.
11. Hastings RP, Bham MS. (2003). The relationship between student behaviour patterns and teacher burnout. *School Psychology International*, 24 (1), 115-127.
12. Gillespie NA, Walsh M, Winefield AH, Dua J, Stough C. (2001). Occupational stress in universities: staff perceptions of the causes, consequences and moderators of stress. *Work & Stress*, 15 (1), 53-72.
13. Winefield AH. (2000). Stress in academe: Some recent research findings. In D.T. Kenny, J.G. Carlson, F.J. McGuigan y J.L. Sheppard (Eds.). *Stress and Health*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 437-446.
14. Winefield AH, Jarret R. (2001). Occupational stress in university staff. *International Journal of Stress Management*, 8 (4), 285-298.
15. Winefield AH, Gillespie N, Stough C, Dua J, Hapuarachchi J. (2002). Occupational stress in Australian Universities: A national survey 2002. A Report to the Vice Chancellors, National Tertiary Education Union, Faculty and Staff of Australian Universities, and The Ministers for Education and Health.
16. Paoli P, Merllié D. (2001). Tercera encuesta europea sobre condiciones de trabajo 2000. Fundación Europea para la Mejora de las Condiciones de Vida y de Trabajo: Luxemburgo, 2001.
17. Fernández Ríos M. (1995). Escala laboral de estrés (ELF). Madrid: Universidad Autónoma de Madrid.
18. Maslach C, Jackson SE. (1981). *Maslach Burnout Inventory*. Palo Alto, California: Consulting Psychologists Press.
19. Seisdedos M. (1997). *Inventario de Burnout de Maslach*. Madrid: TEA Ediciones.
20. García Pérez M, Magaz Lago A. (1998). Escala Magallanes de Estrés. Bizkaia: COHS. Consultores en Ciencias Humanas, S. L.
21. Abouserie R. (1996). Stress, coping strategies and job satisfaction in university academic staff. *Educational Psychology*, 16, 49-56.
22. Durán Durán MA, Extremera Pacheco N, Rey Peña, L. (2001). Burnout en profesionales de la enseñanza. Un estudio en educación primaria, secundaria y superior. *Revista de Psicología del Trabajo y de las Organizaciones*, 17 (1), 45-62.
23. Kinman G. (1998). Pressure points: A survey into the causes and consequences of occupational stress in UK academic and related staff. London: Association of University Teachers.
24. Perrewé PL, Ralston DA, Hochwarter WA, Westman M, Rossi AM, Vollmer G, Wallac A, Tang M, Wan P, Maignan I, Van Deusen ChA, Castro STL. (2002). Are work stress relationships universal? A nine-region examination of role stressors, general self-efficacy, and burnout. *Journal of International Management*, 8, 163-187.
25. Sarros JC, Gmelch WH, Tanewski GA. (1997). Role stress and satisfaction of academic department heads. Caulfield East, VIC: Monash University, Faculty of Business and Economics.
26. Karasek RA. (1979). Job demands, job decision latitude, and mental strain: Implications for job redesign. *Administrative Science Quarterly*, 24, 285-308.
27. Doménech Delgado B. (1995). Introducción al síndrome del burnout en profesores y maestros y su abordaje terapéutico. *Psicología Educativa. Revista de los psicólogos de la educación*, 1 (1), 63-78.
28. Daniels K, Guppy A. (1992). Control, information-seeking preferences, occupational stressors and psychological well-being. *Work & Stress*, 6, 347-353.
29. Barrón López de Roda A. (1996). Apoyo social: Aspectos teóricos y aplicaciones. Madrid: Siglo XXI.

Aportaciones del análisis molecular al diagnóstico y conocimiento de la Distrofia Muscular de Duchenne

Contributions of the Molecular Analysis to the diagnosis and Knowledge of the Duchenne Muscular Dystrophy

Rodríguez Fernández A. L.¹,
Castillo de la Torre A.²

¹ Facultad de Medicina. Universidad CEU-San Pablo
² Clínica Fisiomas. Madrid

RESUMEN

Objetivo: Revisar las técnicas de análisis molecular que se están empleando actualmente en el estudio de la DMD y los avances conseguidos en el diagnóstico y conocimiento de esta patología.

Material y métodos: Se ha realizado una búsqueda bibliográfica de los últimos cinco años en las bases de datos PUBMED, OMIM y GENETEST mediante las palabras clave *Duchenne Muscular Dystrophy and molecular analysis* además de una búsqueda libre según la bibliografía localizada en dichas bases de datos, artículos y libros consultados.

Resultados: se han localizado 73 referencias en las bases de datos de las cuales se han empleado 39 en la revisión, de la búsqueda libre se han utilizado un total de 10 referencias. Los mayores avances se han producido tanto en el reconocimiento de pequeñas mutaciones que pasaban desapercibidas mediante los análisis tradicionales y en la detección de portadoras de la enfermedad.

Conclusiones: El análisis molecular ha facilitado el reconocimiento de numerosas mutaciones implicadas en la DMD así como las frecuencias de cada una de ellas. Se ha producido un gran avance en el diagnóstico y conocimiento de la DMD facilitando su abordaje diagnóstico y terapéutico aunque aún no se haya encontrado un tratamiento resolutivo de la misma.

Palabras clave:
Análisis molecular, diagnóstico, distrofia muscular de Duchenne, distrofina.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 333-340

INTRODUCCIÓN

La Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) consiste en una patología recesiva ligada al cromosoma X en la que el paciente afectado no sín-

Correspondencia:
A. L. Rodríguez Fernández
Facultad de Medicina. Universidad CEU-San Pablo
Tutor 35, 28030 Madrid
alrodfer@ceu.es

tetiza o sintetiza en cantidades mínimas, una proteína llamada distrofina. Como consecuencia de ello, las células musculares entran en un estado de necrosis progresiva (1).

La distrofina es una proteína de 427 kilodalton (2) y 3685 aminoácidos que forma parte del citosqueleto de los miocitos y de algunas neuronas (3). Se ubica en la región interna de la membrana celular y mantiene las propiedades físicas de la célula (4). En el caso de los afectados por la

Rodríguez Fernández A. L.,
Castillo de la Torre A.

Aportación del análisis
molecular a la DMD

DMD, los valores de distrofina se encuentran entre el 0 y 5 por ciento de los valores normales (5).

La acusada disminución de la proteína se debe a mutaciones ocurridas en el gen llamado DMD que codifica dicha proteína y que fue descubierto en el año 1987 (6-8). Se trata del gen humano conocido más grande (9) con un tamaño de 2,4 Mb (2,6) y 79 exones (10). Se ubica en el cromosoma X, más concretamente en el brazo corto en el locus 21.2 (Xp21.2) (1,11).

Los tipos más habituales de mutaciones son las delecciones (alrededor del 60%) seguidas de las duplicaciones (10%) de uno a varios exones y de pequeñas mutaciones que afectan a cambios en una base o que son del tipo splicing (30%) (11-14). Para autores como Mendell o Dolinsky (15,16), estas pequeñas mutaciones pueden alcanzar el 35% del total. Adachi et al. encontraron en su muestra de 76 pacientes unos porcentajes de 60,5% de delecciones; 6,6% de duplicaciones y 22,4% de mutaciones puntuales sobre un total de 89,5% de mutaciones localizadas mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y *Southern blot* (17).

En referencia a la DMD, hay que decir que se trata de la distrofia muscular más frecuente con una incidencia que oscila entre 13-33 por cada 100.000 habitantes según Farreras y Rozman (4) y 20-30 por cada 100000 varones nacidos vivos según Sacadía y Nogués (1). La prevalencia es de 0,003 % (1). En la región norte de Inglaterra la prevalencia es de uno por cada 5618 varones nacidos vivos. Para autores como Matsuo (18) o Leturq (19), la incidencia mundial es de 1 por cada 3500 varones nacidos vivos.

La DMD resulta ser una de las enfermedades neuromusculares más graves (20) produciendo unas secuelas de aparición temprana en el niño con unas consecuencias fatales alrededor de la 2ª década de vida.

El objetivo básico del presente estudio es realizar una revisión sobre los aportes de los diferentes métodos de análisis molecular al diagnóstico y mejor conocimiento de semejante entidad patológica.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

La recopilación de información para la revisión se ha fundamentado en la base de datos PUB-

MED de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos a través de las palabras clave *Duchenne muscular dystrophy and molecular analysis*. También se han consultado las bases de datos OMIM y Genetest mediante las palabras clave *Duchenne muscular dystrophy*. Finalmente, se ha realizado una búsqueda libre de referencias según la bibliografía encontrada en dichas bases de datos y en los artículos y capítulos de libros utilizados.

Los artículos incluidos debían hacer referencia expresa bien a los métodos de diagnóstico molecular empleados, bien a los resultados conseguidos a través de dichos métodos para el progreso en el conocimiento o diagnóstico de la DMD. También se han admitido trabajos que informaran sobre aspectos generales de epidemiología y características tanto del gen DMD como de la molécula que expresa.

En la búsqueda realizada en la base de datos PUBMED, se ha limitado la búsqueda a trabajos publicados en los últimos 5 años y realizados en seres humanos. Sin limitación idiomática. No admitiéndose trabajos que no cumplieran los criterios expuestos anteriormente.

RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA

Los criterios de búsqueda empleados en MEDLINE dan lugar a la aparición de 73 referencias bibliográficas de las que se han utilizado en la revisión final 39 por respeto del resto de criterios temáticos. Respecto a la búsqueda libre en función de la bibliografía encontrada, se han utilizado para diferentes aspectos un total de 10 referencias.

DISCUSIÓN

Si bien el diagnóstico de la DMD se realiza clínicamente con el apoyo de estudios complementarios como analítica, electromiografía o biopsia con estudio inmunohistoquímico, la importancia del diagnóstico molecular reside en identificar el tipo de mutación responsable de la patología y sobre todo, conseguir la detección de portadoras en la familia del afectado y la detección prenatal en familias de riesgo. Según dicen Dunnen et al, en el año 2002 ya se podían localizar el 95% de las mutaciones del gen implicado gracias a los diferentes métodos de análisis molecular empleados (2).

El diagnóstico prenatal, ante el caso de mujeres portadoras o posibles portadoras, puede hacerse sobre las 10-12 semanas de gestación a través de una muestra de las vellosidades coriónicas o entre las 15-18 semanas a través de amniocentesis. Lo más importante puede ser la identificación del sexo del feto mediante el estudio del cariotipo o estudios más complejos del cromosoma X. En el caso de tratarse de un cariotipo 46, XY, se extrae DNA de células fetales y se analiza para conocer el tipo de mutación.

METODOLOGÍA DE ANÁLISIS MOLECULAR

La técnica más comúnmente empleada en la localización de las mutaciones es la reacción múltiple basada en la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) o *PCR multiplex* (10,21). Esta técnica comenzó a utilizarse tras los trabajos de Chamberlain et al. (22) en 1988. Se realizaba una amplificación simultánea de seis secuencias y posterior análisis con electroforesis en gel de agarosa y secuenciación. Así, se detectaron aproximadamente el 70% de las delecciones y se presentó una alternativa al *Southern blot* que tenía los inconvenientes de ser caro, tedioso y prolongado en su ejecución (22). De todos modos el *Southern blot* sigue utilizándose en algunos centros (8).

Actualmente, se amplifican 18 de los 79 exones del gen en dos sets de PCR. Los sets trabajan sobre los exones localizados entre el 43 y el 50 y entre el 2 y el 13. Corresponden con los llamados puntos calientes de delección. De esta forma se detecta entre el 98 y 100% de las delecciones del gen (8).

Uno de los problemas que se detectan a la hora del diagnóstico molecular de la DMD con PCR es que suele ser muy poco específica en la detección de mutaciones puntuales (23-26) y que no se puede emplear en los casos raros de mujeres afectadas debido a que el cromosoma X sin mutación enmascara la delección del mutado (27). Nixon et al. intentaron conocer la sensibilidad de la RT-PCR (PCR con transcriptasa inversa) en la localización de mutaciones puntuales y de portadoras obligadas encontrando una sensibilidad del 50% en los pacientes afectados pero sin localizar mutaciones en las portadoras. El coste de este tipo de prueba ascendía a 6220 dólares americanos (13).

De esta forma, han surgido en los últimos años numerosos métodos que permiten tanto la detección de las pequeñas mutaciones puntuales que corresponden a un tercio del total aproximadamente (23,24), como la optimización de las detecciones clásicas. Entre ellos se pueden destacar:

- Cromatografía líquida desnaturizadora de alto rendimiento (DHPLC) junto a secuenciación: Desarrollado en 2001 por Bennett y colaboradores (24), consigue realizar la detección simultánea de grandes delecciones y de mutaciones puntuales (sustituciones, delecciones o inserciones de uno o varios nucleótidos). La técnica se utilizó en el diagnóstico molecular de 86 amplificaciones correspondientes a ocho pacientes con tests negativos para delecciones. Se localizaron mutaciones puntuales en seis de ellos y comprobaron que los dos restantes tenían polymorfismos. Según los autores, se podría aumentar la detección de mutaciones del 65% al 92% con un incremento mínimo en el coste.

- Análisis de marcadores microsatélite (*microsatellite analysis*): Se pueden emplear marcadores cortos de repetición en tandem (STR) para localizar mujeres portadoras en una familia donde existe un caso de DMD (25,27). Generalmente utilizando la localización de repetición de dinucleótidos polimórficos (CA)_n. También permite localizar mosaicismo germinal en portadoras (28) y cambios en la longitud de los STR-(CA)_n en la transmisión de padre a hijas (11).

- Secuenciación SCAIP (*Single condition amplification/internal primer*): Permite la amplificación de un gran número de exones con un único conjunto de temperaturas de PCR. La especificidad de la secuenciación se consigue mediante la utilización de un segundo set de primers internos. No es necesaria la optimización de las condiciones de cada amplificación de forma individual. Para el caso del gen de la distrofina, se consigue la secuenciación de to-

Rodríguez Fernández A. L.,
Castillo de la Torre A.

Aportación del análisis
molecular a la DMD

das las regiones codificadoras conocidas en tres días de trabajo con una importante reducción de los costes (26). Mediante este método combinado con la hibridación múltiple amplificada de la sonda (MAPH), se concluye que pueden existir muchas mutaciones con resultado de DMD en intrones y no solamente en exones (29).

► MLPA (amplificación múltiple de sondas ligan-do-dependientes): Con este método se identificaron las mutaciones detectadas por PCR y Southern blot y además, se detectaron 28 nuevas mutaciones en 182 afectados por DMD y 14 portadoras. Cuatro de las nuevas mutaciones resultaron ser puntuales (10).

► Utilización de microarrays: El estudio genético mediante el uso de microarrays ha permitido establecer las variaciones en la expresión génica de enfermos afectos por la DMD respecto a sujetos controles. Las variaciones más comunes se han dado en el número de genes que se han podido estudiar en cada experimento. Haslett et al. encuentran en 2002 una sobreexpresión de 105 genes implicados en la expresión de proteínas relacionadas con la respuesta inmune y la infiltración de células inflamatorias (30). Por otro lado, Noguchi et al. (31) realizaron un estudio con microarrays que estudian la expresión de 3500 genes concluyendo que la expresión aumentada se daba en genes relacionados con la respuesta inmune, el desarrollo de la sarcómera y de la matriz extracelular y proteínas relacionadas con el crecimiento celular indicando la naturaleza necrótica e inflamatoria del proceso y el intento de regeneración por parte del tejido afectado. Los genes con baja expresión tenían que ver con el metabolismo energético y la transcripción mostrando así, la pérdida de función en el músculo y la afectación de la homeostasis. Estos resultados son similares a los de otros autores como Nishino et al. (32) con microarrays de 5000 genes o Bakay et al. (33).

Greenberg et al., consiguieron realizar una clasificación correcta de 10 de los 12 pacientes con DMD que estudiaron a través de la utilización de microarrays con 10000 genes diferenciándolos de pacientes con otros tipos de miopatía (34).

► También se han producido novedades en cuanto a la utilización de distintas sustancias para

mejorar el rendimiento de la electroforesis que suele seguir a las técnicas de amplificación. Sanders et al. han investigado mucho en este campo consiguiendo ventajas con el líquido precursor del polímero policimetilsiloxano y electrodos de platino. Así desarrollaron en 2002 un método simple para crear una interfase en el electrodo adecuada (35). Un año más tarde, el mismo equipo describe la utilización de un nuevo *buffer* para electroforesis capilar consistente en hidroxipropil celulosa al 5% que elimina la necesidad de preacondicionar la superficie (36).

NUEVAS APORTACIONES AL DIAGNÓSTICO Y CONOCIMIENTO DE LA DMD

Resulta interesante comprobar la cantidad de nuevas aportaciones que se han realizado en los últimos cinco años al diagnóstico y conocimiento de la enfermedad de Duchenne. En este apartado se van a comentar las encontradas en la revisión realizada.

En el año 2001, Chaturvedi et al. estudiaron a 50 pacientes diagnosticados de DMD o enfermedad de Becker (BMD). En uno de los pacientes en los que la PCR multiplex no encontraba delecciones, se localizó una nueva mutación mediante secuenciación directa (sustitución C2268T) que derivó en un cambio de treonina por metionina en la posición 687 de la distrofina (23).

Alcántara et al. observaron problemas para localizar a una portadora en una familia con DMD por ser esta homocigoto para el alelo menor de cada uno de los marcadores que se utilizaron en la prueba diagnóstica (*linkage analysis*). Mediante PCR multiplex se confirmó la delección que afectaba a los exones 12-17 y se detectó, mediante amplificación de secuencias específicas del cromosoma Y seguidas de PCR multiplex, a un feto afectado por DMD (37).

Van Deutekom et al. (38) observaron que el exón 45 es el que más delecciones aisladas suele sufrir en la DMD. Sin embargo, la delección que afecta a los exones 45 y 46 de forma conjunta causaba una BMD menos maligna que la DMD. Los autores desarrollaron en ratones un sistema para que se sumara a la delección del exón 45, la del 46 para intentar utilizarlo como posible terapia génica en

humanos. Posteriormente El-Harouni et al. corroboran esta información en 2003 (39).

Den Dunnen et al. son los primeros autores que relacionan el análisis genético con la localización del mosaicismo germinal en las portadoras para explicar la recurrencia en las mutaciones de novo (2). Posteriormente serán los estudios de Ferreiro et al. (11, 28) los que detecten el mosaicismo germinal en las portadoras de familias con afectados por DMD mediante la localización de repetición de dinucleótidos polimórficos (CA)n.

Nobile et al. (14) consiguieron detectar mediante PCR los puntos de rotura de las delecciones en el intrón 49, el número total de estos puntos ascendía a 22 que se distribuían de forma homogénea por todo el intrón.

Ungenalp et al. (40) establecen una correlación entre la alteración en la electroretinografía y la localización de la mutación en el gen causante de la enfermedad tanto en pacientes afectos de DMD como de BMD. En portadoras no se apreciaba semejante correlación. Este mismo equipo localizó 4 casos de delecciones en la región del promotor muscular que son bastante raras (41).

Saito-Ohara et al. (42) observan un cúmulo de mutaciones que dieron lugar a un cuadro de DMD con retraso mental profundo que al comienzo fue diagnosticado como parálisis cerebral. Utilizando hibridación fluorescente *in situ* (FISH), PCR, Southern blot y secuenciación observaron tres eventos en el gen de extrema gravedad: delección de parte del DMD en Xp21.2, duplicación del gen de la proteína proteolipídica en Xq22.2 y aparición de un gen nuevo que expresa una nueva proteína llamada *Ras-like GTPasa* posible responsable del retraso mental profundo.

Papp et al. (43) consiguieron el primer nacimiento en Hungría de una niña no afecta tras diagnóstico preimplantacional con PCR fluorescente en blastómeros de preembriones de una madre portadora de la DMD. Para ello utilizaron primers específicos para los cromosomas X e Y e implantaron tres embriones hembra de los que nació una niña no afecta.

Gussoni et al. (44) observan en el año 2003 cómo se retraza la evolución de la enfermedad de Duchenne en un niño que había sido transplantado con médula ósea a causa de una inmunodeficiencia severa ligada al cromosoma X. Mediante

PCR; secuenciación, y FISH, observaron la presencia de núcleos de las células donantes en algunas de las miofibras. El niño fue diagnosticado de la DMD a los 12 años a causa del retraso en la evolución de la enfermedad. Con este hallazgo quedaba abierta la puerta del trasplante de este tipo de células a los pacientes afectos de DMD.

Ito et al. (45) observaron por primera vez en una portadora de la DMD, que el análisis del ácido ribonucleico mensajero (mRNA) de linfocitos periféricos resultaba negativo pero ese análisis en el músculo esquelético podía resultar positivo. Para ello realizaron la secuenciación del resultado de una RT-PCR y detectaron un codón de parada en el exón 12 sólo en el preparado procedente del miocito. Desde entonces, los autores no recomiendan el estudio del DNA en linfocitos en portadoras de la DMD.

Beroud et al. (46) encuentran en el año 2004 cuatro casos de secuencias extra intercaladas entre dos exones intactos mientras que realizaban la búsqueda mutaciones en pacientes afectos de DMD y BMD. La secuenciación informó que se trataba de exones crípticos localizados en el centro de intrones grandes (60, 9,1M y 62). Se observó también una mutación puntual situada en el intrón y que permitía la activación del lugar críptico de forma que el paciente mantenía un fenotipo BMD. Los autores daban mucha importancia a la facilidad con la que podía pasar desapercibido este tipo de mutaciones con los análisis exclusivos de los exones y las zonas adyacentes.

Cagliani et al. (47) localizaron una nueva mutación consistente en una delección que afectaba a los exones 48-52 con la inclusión de un exón nuevo de 73 pares de bases derivado de una porción invertida del exón 53. Para ello, los autores realizaron PCR multiplex y secuenciación. El paciente tenía clínica de BMD.

Suminaga et al. (48) localizaron mediante PCR y secuenciación una nueva mutación (C10873T) en el año 2004 en un paciente asintomático. Como resultado, se producía una distrofina truncada en su extremo C.

Buzin et al. (21) en 2005 analizan 145 pacientes afectos de DMD a los que no se les había localizado delecciones mediante PCR multiplex. Se realizó un estudio de exones codificantes, intrones adyacentes y secuencias de promotores mediante un se-

cuenciador robotizado. Los casos negativos para las mutaciones puntuales fueron estudiados mediante hibridación múltiple amplificada de la sonda (MAPH) para la localización de duplicaciones. Encontraron hasta 40 nuevas mutaciones.

Tran et al. (9) descubrieron en 2005 un nuevo exón críptico en la región 3' del intrón 2. La RT-PCR mostró indicios de que ese exón críptico de nuevo descubrimiento se activaba con un patrón tejido-dependiente.

En 2006, se ha realizado la primera secuenciación directa de la secuencia codificante del gen de la distrofina tras la aplicación de RT-PCR. Se localizaron mutaciones en 10 de los 15 pacientes con DMD estudiados. Los cinco pacientes con estudio negativo fueron sometidos a la llamada *quantitative multiplex fluorescente polymerase chain reaction* (QMF-PCR) mostrando normalidad en la prueba. Los autores hipotetizaron que podría tratarse de alteraciones en la región poli A 3' o de la existencia de codones de parada no detectados con las pruebas realizadas (49).

CONCLUSIONES

- La DMD es la distrofia muscular más frecuente y más dañina que se conoce. Se debe a mutaciones en el gen de la distrofina localizado en el locus Xp 21.2 del cromosoma X.
- El análisis molecular ha facilitado el reconocimiento de los tipos de mutaciones implicados en la patología así como las frecuencias de cada tipo de mutación.
- Los métodos de análisis molecular siguen evolucionando para conseguir detectar las mutaciones más complicadas que suelen ser las pequeñas mutaciones puntuales de una o unas pocas bases.
- En los últimos cinco años, se han producido numerosos avances en el diagnóstico y conocimiento de la DMD gracias a los métodos cada vez más efectivos de análisis molecular. Esto facilita el abordaje diagnóstico e incluso terapéutico de la patología aunque aún no se ha encontrado un tratamiento resolutivo de la misma.

Referencias bibliográficas

1. Sacadía D, Nogués MA. Distrofias musculares. In: Micheli F, Nogués MA, Asconapé JJ, Fernández Pardal MM, Biller J. Tratado de neurología Clínica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2003. p: 1233-7.
2. den Dunnen JT, de Visser M, Bakker E. From gene to disease; the dystrophin gene in Duchenne and Becker muscular dystrophy. Ned Tijdschr Geneeskd 2002; 146:364-7.
3. Ahn AH, Kunkel LM. The structural and functional diversity of dystrophin. Nat Genet 1993; 3:283-91.
4. Farreras Valentí P, Rozman C. Medicina Interna. Madrid: Harcourt Brace; 1995.
5. Hoffman EP, Fischebeck KH, Brown RH, Johnson M, Medori R, Loike JD, et al. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. N Engl J Med 1988; 318:1363-8.
6. Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. Cell 1987; 51: 919-28.
7. Emery AE. Muscular dystrophy into the new millennium. Neuromusc Disord 2002; 12: 343-9.
8. Navarro C, Teijeira S. Miopatología. Nuevo concepto. Nuevo laboratorio. Neurología 2004; 19: 168-82.
9. Tran VK, Zhang Z, Yagi M, Nishiyama A, Habara Y, Takeshima Y et al. A novel cryptic exon identified in the 3' region of intron 2 of the human dystrophin gene. J Hum Genet 2005; 50: 425-33.
10. Schwartz M, Duno M. Improved molecular diagnosis of dystrophin gene mutations using the multiplex ligation-dependent probe amplification method. Genet Test 2004; 8: 361-7.
11. Ferreiro V, Giliberto F, Francispane L, Szijan I. The role of polymorphic short tandem (CA)n repeat loci segregation analysis in the detection of Duchenne muscular dystrophy carriers and prenatal diagnosis. Mol Diagn 2005; 9: 67-80.
12. Tuffery-Giraud S, Saquet C, Chambert S, Echenne B, Marie Cuisset J, Rivier F et al. The role of muscle biopsy in analysis of the dystrophin gene in Duchenne muscular dystrophy: experience of a national referral centre. Neuromuscul Disord 2004; 14: 650-8.
13. Nixon J, Cockburn D, Hopkin J, Seller A, Huson SM. Service provision of complex mutation analysis:

14. Nobile C, Toffolatti L, Rizzi F, Simionati B, Nigro V, Cardazzo B, et al. Analysis of 22 deletion breakpoints in dystrophin intron 49. Hum Genet 2002; 110: 418-21.
15. Mendell JR, Buzin CH, Feng J, Yan J, Serrano C, Sangani DS, et al. Diagnosis of Duchenne dystrophy by enhanced detection of small mutations. Neurology 2001; 57: 645-50.
16. Dolinsky LC, de Moura-Neto RS, Falcao-Conceicao DN. DGGE analysis as a tool to identify point mutations, de novo mutations and carrier of the dystrophin gene. Neuromuscul Disord 2002; 12: 845-8.
17. Adachi K, Yagi M, Ito T, Takeshima Y, Nishio H, Wada H, et al. Dystrophin gene analysis on 76 families with dystrophinopathy. No To Hattatsu 2002; 34: 391-7.
18. Matsuo M. Duchenne muscular dystrophy. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1995; 26:166-71.
19. Leturq F, Kaplan JC. Molecular bases of dystrophinopathies. J Soc Biol 2005; 199: 5-11.
20. Montejo-Pujadas Y, Zaldivar-Vaillant T, Acevedo-López AM. Técnicas diagnósticas descritas en el estudio de la distrofia muscular de Duchenne/Becker. Rev Neurol 2002; 34: 278-81.
21. Buzin CH, Feng J, Yang J, Scaringe W, Liu Q, den Dunnen J, et al. Mutation rates in the dystrophin gene: a hotspot of mutation at a CpG dinucleotide. Hum Mutat 2005; 25: 177-88.
22. Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. Nucleic Acids Res 1988; 16: 11141-55.
23. Chaturvedi LS, Mukherjee M, Srivastava S, Mittal RD, Mittal B. Point mutation and polymorphism in Duchenne/Becker muscular dystrophy (D/BMD) patients. Exp Mol Med 2001; 33: 251-6.
24. Bennet RR, den Dunnen J, O'Brien KE, Darras BT, Kunkel LM. Detection of mutations in the dystrophin gene via automated DHPLC screening and direct sequencing. BMC Genet 2001; 2:17.
25. Kim UK, Chae JJ, Lee SH, Lee CC, Namkoong Y. Molecular diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy by polymerase chain reaction and microsatellite analysis. Mol Cells 2002; 13: 385-8.
26. Flanigan KM, von Niederhausern A, Dunn DM, Alder J, Mendell JR, Weiss RB. Rapid direct sequence analysis of the dystrophin gene. Am J Hum Genet 2003; 72: 931-9.
27. Giliberto F, Ferreiro V, Dalamón V, Surace E, Cotignola J, Esperante S, et al. Direct deletion analysis in two Duchenne muscular dystrophy symptomatic females using polymorphic dinucleotide (CA)n loci within the dystrophin gene. J Biochem Mol Biol 2003; 36: 179-84.
28. Ferreiro V, Szijan I, Giliberto F. Detection of germline mosaicism in two Duchenne muscular dystrophy families using polymorphic dinucleotide (CA)n repeat loci within the dystrophin gene. Mol Diagn 2004; 8: 115-21.
29. Dent KM, Dunn DM, von Niederhausern AC, Aoyagi AT, Kerr L, Bromberg MB, et al. Improved molecular diagnosis of dystrophinopathies in an unselected clinical cohort. Am J Med Genet A 2005; 134: 295-8.
30. Haslett JN, Sanoudou D, Kho AT, Bennet RR, Greenberg SA, Hohane IS, et al. Gene expression comparison of biopsies from Duchenne muscular dystrophy (DMD) and normal skeletal muscle. PNAS 2001; 99: 15000-5.
31. Noguchi S, Tsukahara T, Fujita M, Kurokawa R, Tachikawa M, Toda T, et al. cDNA microarray analysis of individual Duchenne muscular dystrophy patients. Hum Mol Genet 2003; 12: 595-600.
32. Nishino I, Hayashi YK, Noguchi S. The pathomechanism and the direction of therapy development in view of cDNA microarray. Rinsho Shinkeigaku 2004; 44: 905-7.
33. Bakay M, Zhao P, Chen J, Hoffman EP. A web-accessible complete transcriptome of normal human and DMD muscle. Neuromuscul Disord 2002; 12: S125-41.
34. Greenberg SA, Sanoudou D, Haslett JN, Kohane IS, Kunkel LM, Beggs AH, et al. Molecular profiles of inflammatory myopathies. Neurology 2002; 59: 1170-82.
35. Sanders JC, Breadmore MC, Mitchell PS, Landers JP. A simple PDMS-based electro-fluidic interface for microchip electrophoretic separations. Analyst 2002; 127: 1558-63.
36. Sanders JC, Breadmore MC, Kwok YC, Horsman KM, Landers JP. Hydroxypropyl cellulose as an adsorptive coating sieving matrix for DNA separations: artificial neural network optimization for microchip analysis. Anal Chem 2003; 75: 986-94.
37. Alcantara MA, García-Cavazos R, Hernández UE, González del Ángel A, Carnevale A, Orozco L. Carrier detection and prenatal molecular diagnosis in a Duchenne muscular dystrophy family without any affected relative available. Ann Genet 2001; 44: 149-53.
38. van Deutekom JCT, Bremmer-Bout M, Janson AAM, Ginjaar IB, Baas F, den Dunnen JT, et al.

- Antisense-induced exon skipping restores dystrophin expression in DMD patient derived muscle cells. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1547-54.
39. El-Harouni AA, Amr KS, Effat LK, Eassawi ML, Ismail S, Gad YZ, et al. The milder phenotype of the dystrophin gene double deletions. *Acta Neurol Scand* 2003; 107: 400-4.
40. Ulgenalp A, One FH, Soylev MF, Bora E, Afrashi F, Kose S, et al. Electroretinographic findings in Duchenne/Becker muscular dystrophy and correlation with genotype. *Ophthalmic Genet* 2002; 23: 157-65.
41. Ulgenalp A, Giray O, Bora E, Hizli T, Kurul S, Sagim-Saylam G, et al. Deletion analysis and clinical correlations in patients with Xp21 linked muscular dystrophy. *Turk J Pediatr* 2004; 46: 333-8.
42. Saito-Ohara F, Fukuda Y, Ito M, Agarwala KL, Hayashi M, Matsuo M, et al. The Xq22 inversion breakpoint interrupted a novel ras-like GTPase gene in a patient with Duchenne muscular dystrophy and profound mental retardation. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 637-45.
43. Papp Z, Fancovits P, Ban Z, Tothne GZ, Urbancsek J. First case of successful pregnancy after preimplantation genetic diagnosis. *Orv Hetil* 2002; 143: 2881-3.
44. Gussoni E, Bennet RR, Muskiewicz KR, Meyerrose T, Nolta JA, Gilgoff I, et al. Long-term persistence

- of donor nuclei in a Duchenne muscular dystrophy patient receiving bone marrow transplantation. *J Clin Invest* 2002; 10: 807-14.
45. Ito T, Takeshima Y, Yagi M, Kamei S, Wada H, Nakamura H, et al. Analysis of dystrophin mRNA from skeletal muscle but not from lymphocytes led to identification of a novel nonsense mutation in a carrier of Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol* 2003; 250: 581-7.
46. Beroud C, Carrie A, Beldjord C, Deburgrave N, Llense S, Carelle N, et al. Dystrophinopathy caused by mild-intronic substitutions activating cryptic exons in the DMD gene. *Neuromuscul Disord* 2004; 14: 10-8.
47. Cagliani R, Sironi M, Ciafaloni E, Bardoni A, Fortunato F, Prelle A, et al. An intragenic deletion/inversion event in the DMD gene determines a novel exon creation and results in a BMD phenotype. *Hum Genet* 2004; 115: 13-8.
48. Suminaga R, Takeshima Y, Wada H, Yagi M, Matsuo M. C-Terminal truncated dystrophin identified in skeletal muscle of an asymptomatic boy with a novel nonsense mutation of the dystrophin gene. *Pediatr Res* 2004; 56: 739-43.
49. Hamed SA, Hoffman EP. Automated sequence screening of the entire dystrophin cDNA in Duchenne dystrophy: point mutation detection. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006; 141: 44-50.

Comportamiento de la neumonía aguda en niños en el hospital Julio M. Arístegui, de Cárdenas

Acute pneumonia's behavior in children at the Cárdenas Hospital, Julio M. Arístegui

Chávez La Rosa Y., González Arencibia A.

Hospital General Docente Julio M. Arístegui Villamil Cárdenas. Matanzas. Cuba

RESUMEN

Con nuestro trabajo queremos conocer el comportamiento de la neumonía aguda en el Hospital Julio M. Arístegui, de Cárdenas. Se realizó un estudio analítico de corte transversal sobre el comportamiento de la neumonía aguda en niños que egresaron con el diagnóstico de neumonía, del servicio de Pediatría del Hospital de Cárdenas, en un período de 3 años. La muestra fue seleccionada por el método aleatorio quedando constituida por 210 niños. Los datos fueron obtenidos a través de la revisión de historias clínicas. El grupo de edad más afectado fue el de 2 meses a 5 años. Predominó el sexo masculino. La fiebre y la tos fueron las manifestaciones clínicas más frecuentes. En el Rx de tórax predominaron las opacidades peribronquiales y estas estuvieron asociadas a una velocidad de sedimentación globular normal y leucocitosis con predominio de linfocitos en el leucograma. Los hemocultivos tuvieron una positividad baja. La complicación más frecuente fue la sepsis y los antibióticos más utilizados en el grupo de edad menor de 2 meses fueron la penicilina asociada con gentamicina y en los mayores de 2 meses la penicilina.

Palabras clave:

Neumonía, neumonía adquirida en la comunidad, taquipnea.

ABSTRACT

The purpose of our work is to know about the incidences of acute Pneumonia in Cárdenas Hospital «Julio Arístegui». An analytic study was realized about the behaviour of acute Pneumonia in children who left the Pediatric care ward with a diagnosis of Pneumonia in a 3 year period. The sample was selected randomly and consists of 210 children. The data were obtained through the revision of patient's charts. Children aged between 2 month and 5 years were the most affected, especially males. Fever and coughing were the most frequent symptoms. Peribronchial opacities predominated in the thorax films. These opacities were associated to a normal sed rate and leukocytosis with a predominance of lymphocytes in the leukogram. Blood cultures had a low-positiveness. Sepsis was the most frequent complication and the most used antibiotics were penicillin in association with gentamycin for children younger than 2 month old and penicillin for children older than 2 month.

Key words:

Pneumonia, community acquired pneumonia, tachypnea.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) constituyen la primera causa de consultas médicas y de morbilidad, tanto en países desarrollados como en los países en vías de desarrollo.

Correspondencia:
yclarosa.mtz@infomed.sld.cu
anniaag.mtz@infomed.sld.cu

La diferencia entre los niños de países desarrollados y los de en vías de desarrollo no radica en el número de episodios, sino en su gravedad, en el mayor riesgo de adquirir neumonía y morir en el curso de una IRA.

El estándar de vida de los países en desarrollo está asociado con factores del huésped y ambientales, que aumentan el riesgo de IRA grave en los niños. Los riesgos más importantes son el bajo peso al nacer y la malnutrición. La contami-

Chávez La Rosa Y.,
González Arencibia A.

Comportamiento de la neumonía aguda en niños en el hospital «Julio M. Arístegui» de Cárdenas

nación ambiental del aire interior, la ausencia de lactancia materna, el humo del cigarro, el hacinamiento entre otros factores revisten gran importancia.

En nuestro país las IRA están dentro de las 5 primeras causas de muerte en todas las edades. La neumonía bacteriana es la principal causa de muerte por IRA (90%) en el menor de 15 años, en los diferentes grupos etáreos.

También las IRA son, en la edad pediátrica, la primera causa de consultas y de hospitalizaciones con el 30-40% de éstas.

Con nuestro trabajo queremos conocer el comportamiento de la neumonía adquirida en la comunidad en nuestro centro.

OBJETIVOS

General

Conocer el comportamiento de la neumonía aguda en pacientes que egresaron del servicio de Pediatría del Hospital Julio M. Arístegui, de Cárdenas, en el período comprendido entre enero del 2003 a diciembre del 2005.

Específicos

1. Conocer la distribución según sexo y edad.
2. Evaluar las manifestaciones clínicas y los complementarios que se utilizaron para el diagnóstico de la enfermedad.
3. Caracterizar las complicaciones que más se presentaron.
4. Describir el manejo antibiótico en nuestro medio.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio analítico de corte transversal sobre el comportamiento de la neumonía aguda en niños con edades comprendidas desde recién nacidos hasta 14 años, que egresaron con el diagnóstico de neumonía, del servicio de pediatría del Hospital Julio M. Arístegui, de Cárdenas, durante el período comprendido entre enero del 2003 y diciembre de 2005.

Se tuvieron en cuenta para la selección de la muestra los siguientes criterios de inclusión

Criterios de inclusión

Niños previamente sanos hospitalizados en el servicio de Pediatría del Hospital Julio M. Arístegui, de Cárdenas, durante el período comprendido entre enero de 2003 y diciembre de 2005.

El universo estuvo formado por 521 niños que ingresaron con el diagnóstico de neumonía en el Servicio de Pediatría del Hospital Julio Arístegui, de Cárdenas. La muestra fue seleccionada por el método aleatorio quedando constituida por 210 niños. Los datos fueron obtenidos a través de la revisión de historias clínicas y las variables que se estudiaron fueron: edad, sexo, manifestaciones clínicas, radiografía de tórax, leucograma, velocidad de sedimentación globular, hemocultivo, complicaciones y tratamiento antibiótico.

El análisis estadístico de las variables fue realizado mediante distribución de frecuencia y se evaluó la asociación de las mismas utilizando la prueba del Chi Cuadrado o en su defecto el test exacto de Fisher.

TABLA 1. Distribución de los niños según edad y sexo

Edad	Sexo				Total	
	F		M		No	%
	No	%	No	%		
Menor 2 meses	14	40	44	75.6	58	27.6
3 meses-5 años	27	24.5	83	75.4	110	52.4
Mayor 5 años	12	28.6	30	71.4	42	20
Total	53	25.2	157	74.8	210	100

Chávez La Rosa Y.,
González Arencibia A.

Comportamiento de la neumonía aguda en niños en el hospital «Julio M. Arístegui» de Cárdenas

TABLA 2. Manifestaciones clínicas en niños con NAC

Síntomas y Signos clínicos	EDAD						Total	
	Menor 2 meses		3 meses-5 años		Mayor de 5 años			
	No	%	No	%	No	%	No	%
Tos	58	100	110	100	42	100	210	100
Fiebre	52	89.7	103	93.6	40	95.2	195	92.8
Obstrucción nasal	25	43.1	12	10.9	5	12	42	20
Taquipnea	37	68.9	14	12.7	7	16.7	58	27.6
Tiraje	31	53.4	12	10.9	4	9.5	47	22.4
Quejido	2	3.4	1	0.9	3	7.1	6	2.9
Aleteo nasal	0	0	0	0	2	4.8	2	1
Sibilancia	14	24.1	23	21	1	2.4	38	18.1
Crepitantes	0	0	10	9	33	78.5	43	20.5
Murmullo vesicular disminuido	6	10.3	8	7.2	24	57.1	38	18.1
Total	58	100	110	100	42	100	210	100

TABLA 3. Complementarios indicados para el diagnóstico

Rx tórax	Leucograma						VSG			Total	
	Normal		Leucocitosis		Normal		Elevada				
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%	No
Opacidades peribronquiales	44	41	10	9.3	54	50	79	73.1	29	26.9	108
Consolidación lobar	5	8.5	48	81.4	6	10.2	5	8.5	54	91.5	59
Bronconeumonía	2	4.7	40	90	1	2.3	4	9.3	39	90.7	43
Total	51	24.2	98	46.7	61	29	88	42	122	58.1	210

Para el análisis y procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS, versión 10.0

RESULTADOS

En nuestro estudio pudimos observar que el grupo de edad de 3 meses a 5 años fue el más afectado con un 52,4% y el de 5 a 14 años el de menor incidencia 20 %. Hubo predominio del sexo masculino 74,8%, sin una diferencia significativa entre los grupos etáreos ($p > 0,05$) (Tabla 1).

La Tabla 2 muestra que la tos fue el síntoma más frecuente en todos los grupos de edad (100%) seguida por la fiebre (92,8%). En el grupo menor de 2 meses la taquipnea y el tiraje se presentaron en el 68,9 % y 53,4% respectivamente, en el niño mayor de 5 años la disminución del murmullo ve-

sicular y los crepitantes se observaron en el 57,1% y 78,5% respectivamente.

En la Tabla 3 vemos que en el Rx de tórax se observaron con mayor frecuencia las opacidades peribronquiales (51,4%) siguiendo en orden de frecuencia la neumonía lobar (28,1%).

Los pacientes que presentaron opacidades peribronquiales tuvieron una eritrosedimentación normal (73,1%) y leucocitosis con predominio de linfocitos en el leucograma (50%), y los pacientes con neumonía lobar y bronconeumonía presentaron VSG elevada en el 91,5 y 90,7 respectivamente y leucocitosis con predominio de neutrófilos en el leucograma (81,4% y 90% respectivamente).

Los hemocultivos tuvieron una positividad de un 25,5% como muestra la Tabla 4. Los gérmenes que se aislaron fueron bacilos no fermentado-

Chávez La Rosa Y.,
González Arencibia A.

Comportamiento de la neumonía aguda en niños en el hospital «Julio M. Arístegui» de Cárdenas

res, estafilococo coagulasa negativo y estafilococo aureus. Los hemocultivos positivos estuvieron en relación con aquellos pacientes con neumonía lobar y bronconeumonía.

Dentro de las complicaciones la más frecuente fue la sepsis (73,6%) como se muestra en la Ta-

TABLA 4. Resultados de los hemocultivos

Hemocultivos	No	%
Negativos	76	74.5
Positivos	26	25.5
Total	102	100

TABLA 5. Complicaciones asociadas a neumonía aguda

Complicaciones	No	%
Sepsis	28	73.6
Derrame pleural paraneumónico	3	7.9
Atelectasia	7	18.4
Total	38	100

bla 5. El derrame pleural paraneumónico y la atelectasia se observó en el 7,9% y 18,4% respectivamente.

En la Tabla 6 se exponen los antibióticos utilizados donde puede observarse que en el grupo de edad menor de 2 meses fueron la asociación de penicilina + gentamicina (44,9%), en los otros dos grupos de edad el uso de penicilina y cefazolina tuvo un comportamiento similar, siendo estos dos antibióticos los de mayor utilización. La cefotaxima y el ceftriaxone se utilizaron en aquellos pacientes que presentaron complicaciones como la sepsis y el derrame pleural.

DISCUSIÓN

La mayor frecuencia de neumonía en los menores de 5 años se relaciona con el hecho que mientras más pequeño es el niño menor desarrollo inmunológico, menor diámetro vías aéreas periféricas, mayor obstrucción por secreciones, menor distensibilidad del pulmón, más fatigabilidad del diafragma y mecanismo de la tos deficiente (no expectora).

En relación al sexo se manifiesta igual que en la literatura donde se refiere que en el sexo masculi-

no son más frecuentes las infecciones respiratorias agudas de manera general.

La fiebre y la tos fueron los síntomas más frecuentemente encontrados en nuestro estudio. La fiebre es una respuesta adaptativa utilizada por casi todos los vertebrados, como parte de la reacción de fase aguda de la respuesta inmune. La mayoría de las veces la fiebre se debe a un proceso viral y de poca importancia, preferentemente infecciones respiratorias altas, pero una proporción de niños tendrá una infección más específica, de gravedad variable, provocada por bacterias que se pueden localizar en diferentes órganos. Hay que tener presente que la presencia de fiebre no es un signo de neumonía y que en los niños pequeños puede no estar siempre presente como se pudo ver en nuestro trabajo.

En el niño pequeño con neumonías pocas extensas puede no encontrarse manifestaciones estetoscópicas, la neumonía se va a manifestar por síntomas generales, con polipnea y en casos severos, tiraje; en ocasiones las neumonías intersticiales se puede manifestar como un síndrome de obstrucción bronquial difuso con inspiración prolongada y sibilancias. En el niño mayor, es más frecuente una respiración ruda o respiración soplante y estertores crepitantes o subcrepitantes finos.

Aunque los síntomas y signos clínicos son indicadores útiles de la presencia de la enfermedad así como de su etiología, la interpretación radiográfica se utiliza frecuentemente para confirmar o excluir la neumonía.

El mayor número de pacientes con opacidades peribronquiales en el Rx, presentaron una VSG dentro de límites normales y leucocitosis con predominio de linfocitos. Cuando revisamos la literatura vemos que las opacidades peribronquiales se describen en neumonías donde la etiología es principalmente viral, lo que habla a favor de los resultados encontrados.

En el caso de la opacidad lobar y las lesiones bronconeumáticas se relacionan con una elevación de la VSG y una leucocitosis con predominio de neutrófilos. Esto está en relación con la etiología de estos tipos de neumonías, en la neumonía lobar son las bacterias los gérmenes más frecuentes y en las bronconeumonías en el caso de los países desarrollados son de causa viral pero en los que están en vías de desarrollo las bac-

Chávez La Rosa Y.,
González Arencibia A.

Comportamiento de la neumonía aguda en niños en el hospital «Julio M. Arístegui» de Cárdenas

terias intervienen hasta en el 70% de este síndrome, por eso se debe considerar como bacteriana hasta que no se demuestre lo contrario.

En la literatura se reporta que los hemocultivos tienen una positividad no mayor del 20% en las neumonías lobares y bronconeumonías, lo que se aproxima a los resultados encontrados en nuestro trabajo.

Las manifestaciones de sepsis se observaron en niños que no habían recibido tratamiento antibiótico ya que las manifestaciones respiratorias eran de reciente comienzo e incluso las radiografías de tórax al inicio presentaban lesiones escasas.

Las limitaciones técnicas para el diagnóstico etiológico de las neumonías dificultan a veces la toma de decisiones sobre la administración de antibióticos.

En nuestro estudio vemos que en el grupo menor de 2 meses se utiliza la asociación de penicilina más un aminoglucósido, lo que se corresponde con la literatura revisada. En nuestro centro utilizamos la gentamicina y la mayoría de los pacientes evolucionan satisfactoriamente, sin observarse resistencia a la misma.

En los grupos de 3 meses a 5 años y mayores de 5 años se continúa con la utilización de penicilina como primera línea de tratamiento de las neumonías adquiridas en la comunidad, sin embargo observamos incremento en el uso de la cefazolina y es debido al número de niños alérgicos a la penicilina que tenemos.

CONCLUSIONES

1. El grupo de edad más afectado fue el de 2 meses - 5 años y el sexo masculino.
2. La fiebre y la tos fueron las manifestaciones clínicas más frecuentes.
3. En el Rx de tórax predominaron las opacidades peribronquiales y estas estuvieron asociadas a una VSG normal y leucocitosis con predominio de linfocitos en el leucograma.
4. Los hemocultivos tuvieron una positividad baja.
5. La complicación más frecuente fue la sepsis, seguida del derrame pleural y la atelectasia.
6. Los antibióticos más utilizados en el grupo de edad menor de 2 meses fueron la penicilina asociada con gentamicina y en los mayores de 2 meses la penicilina.

TABLA 6. Antibióticos utilizados en el tratamiento de la neumonía aguda

Antibióticos	EDAD						Total	
	Menor 2 meses		3 meses-5 años		Mayor de 5 años			
	No	%	No	%	No	%	No	%
Penicilina	0	0	88	80	36	85.7	124	59
Cefazolina	0	0	78	70.9	27	64.2	105	50
Cefotaxima	14	24.1	24	21.8	9	21.4	47	22.4
Ceftriaxone	12	20.7	8	7.3	2	4.8	22	10.4
Trifamox	0	0	2	1.8	1	2.4	3	1.4
Fosfomicina Parenteral	0	0	1	0.9	1	2.4	2	0.9
Vancomicina	0	0	1	0.9	1	2.4	2	0.9
Penicilina + Gentamicina	26	44.9	0	0	0	0	26	12.4
Cefotaxima + Amikacina	0	0	12	10.9	9	21.4	21	10
Azitromicina	0	0	13	11.8	19	45.2	32	15.2
Eritromicina	0	0	2	1.8	4	9.5	6	2.9
Amoxacillina	0	0	10	9.1	9	21.4	19	9
Cefalexina	0	0	3	2.7	5	11.9	8	3.8
Fosfomicina oral	0	0	1	0.9	2	4.8	3	1.4

Referencias bibliográficas

1. Behrman, R., R. Kliegman and A. Arwin eds: Nelson, Texbook of Pediatrics, 16th, ed. Ed. W Saunders, Philadelphia, 2000.
2. Bellamy, C.: Estado Mundial de la Infancia, 2002, UNICEF.
3. Mulholland, K.: "Magnitude of the problem of childhood pneumonia", Lancet, London, vol 354, 590-2, 1999.
4. Cox, N.: "Prevention and control of influenza", Lancet, London, vol. 354, Suppl. 2002, no.30, 1999.
5. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico, 1999, Editorial Ciencia Médicas, La Habana, 2000.
6. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Programa Integral de Atención y Control de las Infecciones Respiratorias Agudas, Cuba, 2000.
7. Rivero A; Jurado R; Moreno J. Et al. Protocolo diagnóstico-terapéutico de la neumonía adquirida en la comunidad. Medicine, 62 2002; 08: 3325-3329
8. Kelly D. Guidelines for managing community acquired pneumonia in adults. BMJ. 2002 23; 324:436-37
9. McCracken GH. Etiology and treatment of pneumonia. Pediatr Infect Dis J. 2000; 19: 373-7.
10. Toikka P, Juven T, Virkki R, Leinonen M, Mertsola J, Ruuskanen O. Streptococcus pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae co-infection in community acquired pneumonia. Arch Dis Child 2000; 83: 413-14.
11. ALAT. Recomendaciones ALAT sobre la neumonía adquirida en la comunidad. Arch Bronconeumol 2001; 37:340-48.
12. Irigay R; Esteban L; Larrotcha N et al. En: manual de neumología y cirugía torácica. SEPAR. Ed. Médicos. 1998:1341-256.
13. Pickering LK, ed. 2000 Red book: report of the Committee on Infectious Diseases. 25th ed. Elk Grove Village, Ill.: American Academy of Pediatrics, 2000.
14. Reyes MA, Aristazabal G, Leal FJ. Neumología Pediátrica 4a ed. Bogotá: Editorial Panamericana; 2001.
15. Muhe L, Tilahun M, Lulseges S, Kebede S, Enaro D, Ringertz S, et al. Etiology of pneumonia, sepsis and meningitis in infants younger than three months of age in Ethiopia. Pediatr Infect Dis J 1999; 18(10 Suppl): S56-S61.
16. Aristazabal G. Neumonías adquirida en comunidad. Revista Colombiana de Neumología 2001, 12 (4): 287-89.
17. Juven T, Mertsola J, Waris M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. Pediatr Infect Dis J 2000;19:293-298.
18. García J, Fresnadillo MJ. Microbiología de la infección respiratoria pediátrica. An Esp Pediatr 2002; 56: 2-8.
19. Gordon RC. Community-acquired pneumonia in adolescents. Adolescent Medicine 2000; 11 (3): 681-95.
20. Mandell L, Grossman RF, Marrie TJ, Chow AW, Hyland RH. Canadian guidelines for the initial management off community-acquired pneumonia: An evidence-based update by canadian infectious diseases society end the Canadian thoracic society. Clinical Infectious Diseases 2000; 31:383-21.

Atención psicológica a personas involucradas en accidentes de tráfico

Psychological care to involved people at traffic crashes

Acinas Acinas M^a P.

Supervisora de IPSE – Intervención Psicológica Especializada.

RESUMEN

Este artículo muestra cuáles son las manifestaciones psíquicas en un accidente de tráfico y cómo llevar a cabo la atención psicológica en los primeros momentos.

Es interesante prestar atención a las reacciones mostradas por niños y personas mayores y a las pautas de actuación para cada grupo.

Palabras clave:

Accidente de tráfico, afectados, niños, personas mayores, atención psicológica.

ABSTRACT

This article shows the psychological expressions at a traffic crash and how to carry out the psychological care from that first moment.

Of particular interest is to pay attention of children and ageing people reactions' and the guidelines for every group.

Keywords:

Traffic crash, damaged people, children, ageing people, psychological care.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 347-357

INTRODUCCIÓN

La Psicología ha estudiado los Accidentes de Tráfico (AA.TT.) desde varios puntos de vista. Se ha hablado de la prevención de los mismos –aquí se encuadran las investigaciones de la Dirección General de Tráfico y del Instituto Intras de Valencia– (1, 2) teniendo en cuenta las variables que influyen en el conductor y la forma de prevenir los AA.TT.

Se han estudiado también las secuelas psicológicas posteriores a un Accidente de Tráfico (AT) (por ejemplo el llamado Trastorno de Estrés Postraumático o TEPT) y la intervención psicológica concomitante, a través del grupo de Echeburúa o con organizaciones como la SEAS (Sociedad Española para el Estudio de Ansiedad y Estrés), con los profesores Miguel-Tobal y Cano-Vindel.

Otros autores (3), (4), (5) se han ocupado de la rehabilitación psicológica que debe acompañar, en multitud de ocasiones, a la rehabilitación física y/o tras la pérdida de una parte del cuerpo o de la funcionalidad de la misma después del AT. Algunas de estas investigaciones han estado auspiciadas por el Instituto MAPFRE de Seguridad Vial en su interés por la seguridad y la preventión de accidentes de tráfico.

Sin embargo, las investigaciones y los trabajos respecto a la atención psicológica *in situ*, en el propio lugar del AT, son muy escasas. No obstante, algunos autores hablan de prevención de lesiones psicológicas apelando a la intervención psicológica temprana, en un corto periodo de tiempo tras el AT, con afectados o víctimas directas (familiares, amigos, testigos...). Esta intervención precoz podría ayudar a afrontar más exitosamente los difíciles momentos de verse implicado en un AT.

Los AA.TT. tienen un coste de 160.000 millones de euros (6), lo que equivale al 2% del Producto Interior Bruto de la Unión Europea. Este organismo se ha propuesto reducir a la mitad pa-

ra el año 2010 la cifra de 40.000 fallecidos y 1.700.000 personas que sufren lesiones corporales por accidentes automovilísticos. En esta dirección se prevé crear un Observatorio Europeo en Seguridad Vial, para coordinar las actividades de recogida y análisis de datos.

En los últimos años (7) se están produciendo avances significativos en la comprensión de los problemas ocasionados por los AA.TT. El coste de los mismos en términos de salud para la comunidad (8) es muy elevado. No hay evidencia clara de que la severidad de las heridas físicas pueda predecir la probabilidad de desarrollar un TEPT (9).

La causa de los AATT suele ser multifactorial, nunca es única (10). Conocerlas nos puede facilitar el manejo de las reacciones de los afectados en la intervención psicológica (especialmente el manejo de la culpa centrada en uno mismo o dirigida hacia otros como causantes del AT).

Cuando una persona conduce realiza esta actividad influida por tres factores (11):

- Estado físico, en el que influyen vivencias inmediatamente anteriores a la conducción (discusiones, disgustos...) y el consumo de sustancias.
- Formación más o menos correcta en la tarea de conducir.
- Actitudes que interaccionan de forma compleja, que tienen en la educación vial su mejor aliada.

En lo que se refiere a accidentes laborales, en conductores profesionales, se establece una relación causal entre el desplazamiento y la prestación del trabajo, procurando no alterar la salida del domicilio o del trabajador (10). Además, los daños causados por AATT y accidentes laborales son considerables desde el punto de vista económico y social.

También se ha visto que el 42% de los motoristas dejan de conducir motos tras un AT (9). Para los investigadores los accidentes automovilísticos que implican a peatones son problemáticos, pero todavía no se han llevado a cabo intervenciones y evaluaciones dirigidas al problema (12).

MANIFESTACIONES PSICOLÓGICAS EN AFECTADOS TRAS EL ACCIDENTE DE TRÁFICO

Cuando tiene lugar un AT se acrecientan las percepciones olfativas, visuales y auditivas de

los afectados, lo cual puede resultar muy molesto para la persona que está implicada. El estado de sobreestimulación sensorial puede desbordar al sujeto y conducirle a un estado de estupor con reducción del campo de la conciencia y la atención (13).

En estas circunstancias, quienes están implicados pueden manifestar reacciones difíciles de manejar por varios motivos: porque la persona ha sufrido el AT de manera brusca o inesperada, lo ha provocado (intencionadamente, o no) o ha visto como alguien sufría el AT y necesita recibir ayuda de manera urgente... Hay algunas situaciones que pueden ilustrar esto: el conductor de un coche que resulta ileso por el accidente pero cuyo acompañante presenta heridas muy graves con riesgo de muerte; o el accidente sobrevenido a un Guardia Civil atropellado por un camión mientras realizaba su trabajo en un control de carretera el 7 de marzo del año 2005.

Las personas también reaccionan (14), (15) según sus predisposiciones genéticas, historia personal (aprendizajes, entrenamientos, experiencias...), la situación emocional en ese momento (problemas familiares, laborales, duelos u otras pérdidas recientes...), etc.

En un estudio (16) realizado en conductores de coches que sufrieron un AT se vio que las mujeres estaban más concienciadas que los hombres en cuestiones de seguridad respecto a la conducción. También ellas mostraban más síntomas físicos desproporcionados que los hombres conductores, en circunstancias relacionadas con un AT.

En personas que han sufrido un Traumatismo Cráneo-Encefálico (TCE), aunque no exista fractura craneal (10), se puede producir una lesión encefálica difusa. Entonces la atención sostenida de la víctima disminuye y puede dificultar la intervención psicológica. Además está circunstancia puede estar asociada a irritabilidad, que también puede aparecer si el afectado está bajo los efectos del alcohol; en estas condiciones puede ser difícil mantener una conversación, especialmente si la persona cree que ha causado, aunque sólo sea en parte, el accidente.

Generalmente se produce una amnesia postraumática. Aunque estén conscientes tras el AT a veces tienen lagunas de memoria; por ejemplo, no recordar cómo han salido del coche o si han vol-

cado en la cuneta. Son reacciones normales, y como tales hay que transmitírselo a las personas o a los acompañantes de las víctimas.

Se ha visto que el 50% de los involucrados en un A.T. (9) presentaban traumas previos al propio accidente; asimismo la existencia de TEPTs anteriores al AT sensibiliza para poder sufrir otro TEPT.

Un accidente supone siempre (4) una agresión a la integridad de la persona, con las siguientes implicaciones:

1. Significa una grave agresión a la integridad física, originando lesiones.
2. Representa una fuerte agresión a la integridad mental de los afectados, con el impacto emocional asociado.
3. La persona se ve abocada a afrontar procesos médicos y/o quirúrgicos prolongados, hospitalizaciones...
4. Significa una parada brusca en proyectos, expectativas, compromisos, (excepto en suicidios encubiertos o accidentes «deseados»).
5. Implica reformular la vida y los roles familiares.
6. Los problemas físicos pueden ser de tal magnitud que conlleven pérdida de capacidades, conductas de adaptación...

La forma de percibir lo ocurrido y la manera de afrontarlo (18) dependerá de su personalidad, de vivencias anteriores, de las características previas, de las características del accidente y de las lesiones, así como del contexto cultural, económico y social de la familia.

En los casos en que hay múltiples víctimas puede ser necesario hacer un triaje psicológico, igual que se hace en cuanto a lesiones físicas en el ámbito médico. Algunos autores (19) han planteado un modelo con diversos criterios de prioridad que favorecería estas tareas considerablemente.

PERSONAS OBJETO DE INTERVENCIÓN

El AT afecta no sólo a conductores y pasajeros, sino también a testigos que presencian escenas terroríficas para ellos (20), amigos, espectadores y el propio personal de rescate (21). Las personas que pueden requerir atención psicológica son:

- Conductor / otros ocupantes. Para algunos de ellos, que se dirigían al trabajo, se trata de un accidente in itinere.
- Ciclistas /motoristas.

► Peatones / atropellados (muy vulnerables, porque no llevan protección...)

► Observadores o testigos del AT.

► Conductores profesionales (camioneros, taxistas,

representantes, repartidores, conductores de au-

tobuses o de vehículos de emergencia...), para

los que el AT es además un accidente de trabajo, interrumpiendo la continuidad del mismo.

► Familiares de fallecidos, personas que hay que rescatar (22). Es importante cuidar el primer contacto con los familiares de afectados (15), pa-

ra que la intervención sea exitosa.

► Intervinientes (personas que han actuado de alguna manera en el AT): profesionales (sanitarios, bomberos, personal de rescate (22), policías /guardia civil, trabajadores sociales, otros compañeros...), voluntarios (técnicos de emergencias, bomberos voluntarios, socorristas...), testigos que ayudan en el accidente (con el consentimiento y bajo supervisión del coordinador de la intervención in situ),...

Los recursos disponibles deben adaptarse, (23) a las exigencias de las víctimas en esas circunstancias. Cuando la víctima se ve a sí misma como incapaz de remontar el problema, es más fácil que pida ayuda (24).

Vamos a centrarnos en este artículo en dos colectivos que por sus características, son más vulnerables (13) a los AA.TT: niños y personas de edad avanzada.

INTERVENCIÓN CON AFECTADOS POR A.T.

Nadie está preparado para sufrir un accidente; por ser un hecho violento ocasiona un fuerte estrés (estrés postraumático), por ser súbito es inesperado e imprevisto, por ser externo, se vivencia como un ataque, una amenaza y por ser involuntario se siente impotencia y en muchos casos, culpa (25).

La intervención con los afectados va dirigida a disminuir la angustia y ansiedad, especialmente en los primeros momentos. Se trata de recuperar el equilibrio roto por la situación vivenciada. El hecho de enfermar supone una ruptura del equilibrio personal al tener que hacer frente a múltiples amenazas (26).

Las secuelas psicológicas que se pueden originar remiten con el tiempo en la mayoría de los casos, pero el tiempo que pueden durar estas manifestacio-

nes se reduce mucho con la intervención psicológica. (22). En un AT concurren una serie de circunstancias, además del tipo de reacciones que manifiestan las personas, que hace que se requiera una atención psicológica urgente, que no puede demorarse. Lo primero es cubrir las necesidades fisiológicas (hambre, sed...), después se hace necesario cubrir las necesidades superiores de orden psicológico, para no mermar la calidad de vida del individuo (15). Además indican que el objetivo de la primera ayuda psicológica es restablecer el enfrentamiento inmediato; lo cual incluye el manejo de sentimientos o componentes subjetivos de la situación e iniciar el proceso de solución de problemas.

Por lo tanto, las intervenciones deberían ir orientadas a satisfacer la jerarquía de las necesidades (27), (28). Un AT viola el sentido de la seguridad y la invencibilidad (20). Se atribuye a causas externas lo ocurrido y se piensa que no se puede hacer nada al respecto. Entonces hay que recolocar el Locus de Control para que vuelva a ser interno (21) y la persona ponga en marcha sus recursos cognitivos para hacer frente a la situación.

Tras esta situación, que excede las capacidades adaptativas de la persona y que es inesperada, la persona debe adaptarse a la realidad, con más o menos esfuerzo (14). El interviniante debe buscar la contención de una situación de peligro potencial y la resignificación de la crisis en la vida de la persona (24). Se trata de ayudarlos a recuperarse de forma rápida y efectiva, aceptando sus limitaciones y ayudándolos a descubrir recursos que pueden usar de inmediato (29).

La Intervención ante los AA.TT podemos incluirla dentro de la psicotraumatología (30): doctrina interdisciplinar sobre las heridas o lesiones psíquicas y sus múltiples consecuencias negativas para quienes las sufren. El centro es la persona o individuo capaz de ser amenazado, herido o lesionado, en sus necesidades más elementales, en su dignidad y libertad. Cada AT tiene sus aspectos traumáticos únicos que interactúan con las diferentes percepciones de toda persona implicada en el mismo (31).

Aunque tras una situación generadora de crisis, la intervención se centre en el suceso acontecido, hay que situar lo ocurrido en la experiencia vital y psicobiográfica de la persona y precisar su significado en ella (32). No es lo mismo el recuerdo que la historia en sí, porque el desafío es aceptar el

traumatismo, incluso enriquecerse con él; no hay otra alternativa (33).

La esencia de la Psicoterapia Breve Intensiva y de Urgencia (29), se orienta y selecciona los síntomas principales más perturbadores y sus causas, dentro del mayor marco posible. En ocasiones estas intervenciones pueden prolongarse con varias sesiones.

Es fundamental mostrar confianza en el potencial de recuperación de la persona (34). Generalmente la afectada posee más recursos que los que piensa el profesional, para afrontar con éxito y sin secuelas psicológicas la situación. Es diferente saber lo que hay que hacer (reducir la ansiedad, permitir la ventilación emocional, favorecer el desarrollo de recursos que permitan la adaptación...) que saber cómo hacerlo (preguntar sobre un tema concreto, hablar despacio porque la persona está alterada, acercarse un poco...) (26).

Se trata de (35) percibir la realidad tal como es, no tal como creemos que es. La adopción de una actitud realista y constructiva en una situación de emergencia, es tan importante como contar con una alta capacidad físico – técnica para resolverla.

NIÑOS PEQUEÑOS

En España, uno de cada 22 muertos en AT es un niño menor de 14 años; las cifras aumentan si hablamos de heridos (36). Además hay una alta incidencia de accidentes de bicicleta en la infancia (1).

Aunque en la práctica es distinto, los AA.TT. en los que están implicados niños pequeños pueden ser de dos tipos (36):

- El niño es sujeto activo (causante o no) como peatón o incluso como conductor.
- El niño es sujeto pasivo, usuario de un vehículo conducido por otra persona.

Las características diferenciales de los AA.TT con niños son las siguientes:

- Las situaciones en que se producen más frecuentemente son: entradas y salidas de colegios, vehículos aparcados en doble fila, en semáforos y pasos de peatones, mal uso de dispositivos de retención (36).
- Las secuelas suelen ser más graves y/o tienen mayor impacto que en adultos. Su centro de gravedad está más alto, lo que origina mayor propensión a caerse cuando son peatones y a salir proyectados hacia delante cuando van dentro

de un vehículo (36). Por otro lado, si el atropellado es un niño se producen reacciones emocionales más intensas en los testigos del AT.

- Sus reacciones en el AT (25) van a estar condicionadas frecuentemente por las reacciones de los padres.
- Su corta experiencia personal (37) influye en la comprensión de la situación. En niños pequeños puede apreciarse desconocimiento de los códigos de colores empleados en la circulación.
- Posee menos recursos personales para asimilar lo que supone un A.T.
- Su periodo de atención es más corto, si hay que darle algún tipo de información.
- Tiene mayor dificultad para expresarse y contar lo que les ocurre.
- Presenta menor desarrollo vasomotor y auditivo-motor (36), lo cual influye en la apreciación de distancias y velocidades, asociaciones incorrectas de velocidad y ruido.
- Son más impulsivos y también hay diferencias en su valoración del riesgo (36).
- Presentan mayor tendencia a fantasear si no tienen información adecuada.
- Cuando son víctimas de atropello puede ser por desconocimiento de normas de tráfico.
- Si ha fallecido un ser querido, tener en cuenta que, cuando acontece es más dura y difícil de afrontar para el menor (38). El afrontamiento es más complejo cuando hay más de un hijo y tienen edades muy dispares.
- Tras el AT pueden aparecer conductas disruptivas, problemas de sueño, necesidad de tener la luz encendida para dormir... (37).

Actuación con niños pequeños

Las características del AT no predicen el malestar psicológico (37), pero parece que las niñas tienen mayor riesgo de presentar TEPT. Algunos niños pueden dejar de hablar transitoriamente por el impacto de la experiencia visual (29). Las estrategias más acertadas serían las siguientes.

- Crear clima de confianza, garantizarles que están seguros y a salvo (39). Si presenta heridas físicas, arroparle física y psicológicamente (18).
- Dar explicaciones claras y adaptadas a la edad y a su nivel cognitivo (38), respecto a lo que ha ocurrido y lo que les están haciendo a ellos y a

sus familiares. Las fantasías son en ocasiones más peligrosas (18) que los hechos en sí mismos.

- Dicir que se quiere ayudar (no dañar). Mostrar atención e interés pero sin presionarle para que hable (29).
- Impedir visión de estímulos impactantes. Evitará reviviscencias y *flashbacks*; aunque a veces se ha sobreestimado la presencia de TEPT en niños (40).
- Considerar sus experiencias personales anteriores, para ayudarles mejor.
- Ayudar a expresarse sobre lo ocurrido (pensamientos, miedos...) o sobre la situación que han vivido: juego (pueden emplearse muñecos), dibujo, cuentos, lenguaje, música... (38). Preguntarle qué ha pasado, qué ha visto, cómo ha salido del coche o cómo se ha levantado del suelo. Dejarles hablar con sus padres de los miedos, preocupaciones... (39).
- Hacerle sentir útil (ej.: sujetar la venda de un familiar) si no presenta lesiones físicas.
- Transmitir seguridad: que se está a salvo en un lugar seguro, que el peligro ya ha pasado, que no les vamos a dejarles solos.
- Corregir distorsiones en la interpretación de lo que ven, lo cual requiere cierta habilidad (15). Evitar que se culpe de lo sucedido, especialmente si ha fallecido alguien.
- Valorar la conveniencia de que algún progenitor o adulto esté con ellos, para darle seguridad y calmar su nerviosismo (41). Si el niño ha influido en el accidente (juegos, gritos, sacar brazos por la ventanilla...) pueden incrementar su culpabilidad innecesariamente. Tener en cuenta que el niño codifica el AT a través del adulto, lo cual puede convertir a la familia en un elemento facilitador o en un obstáculo (25). A veces puede estar con un hermano mayor u otro compañero. Los niños (37) se sienten más próximos a sus amigos si éstos están involucrados en el AT.
- Acompañar a ver familiar herido. Informar al menor de lo que va a ver (38) y dejarle que decida por sí mismo si quiere ver en ese momento a su familiar.
- Informar cuándo y dónde se reunirá con padres (41). No hay nada más desconcertante para un niño, que ver triste y nerviosa a su familia y no saber qué pasa (18). Por ejemplo, decirle que va a ver a sus padres dentro de 20 minutos en el hospital y que todos van a ir allí en ambulancia.

- ▶ Usar la sonrisa. Disminuye el miedo de los niños, porque percibe que no le van a hacer daño.
- ▶ Ponerse a su altura para hablar. La comunicación es más fluida y puede ver nuestra cara y que pude de confiar en nosotros.
- ▶ Prestar atención a reacciones de adultos. Tener en cuenta que, antes de los siete años, los niños son incapaces de comprender aquellas emociones que no están directamente relacionadas con lo que muestra la cara (38).
- ▶ Informarle apropiadamente en caso de graves lesiones o fallecimiento de un familiar (progenitor, hermano...). Ser correctos y frances, facilitándoles la comprensión de lo sucedido (39).
- ▶ Ante ideas distorsionadas sobre lo que ha ocurrido, preguntarle: ¿por qué piensa eso? Decirle la verdad, dejar que los adultos de referencia le besen y abracen (38).
- ▶ Indagar posibles miedos a volverse a montar en coche, especialmente si el coche quedó boca abajo y estuvieron conscientes mientras tanto. Aunque a veces no sea posible intervenir sobre ellos.
- ▶ Si tienen que hacerle pruebas o tomar constantes en el lugar del AT, decir que todo va bien (siempre que sea cierto, porque va tranquilizar al niño) y reforzar positivamente por haber tolerado las pruebas.
- ▶ En atropellos de niños, procurar que no se arremoline mucha gente alrededor del accidente (especialmente otros niños impactados emocionalmente por las características del AT). Además esto garantiza la seguridad y evita que más personas resulten atropelladas por invadir la calzada para ver qué ocurre; asimismo facilita el acceso de servicios de emergencia, policía local...
- ▶ Tener en cuenta al niño a la hora de tomar decisiones que le atañen. Aunque sea pequeño hay cosas sobre las que puede decidir.

Los niños que pueden tener mayor afectación psicológica por el AT, no se suelen detectar fácilmente en el lugar del mismo (37). Por esta razón hay que ser muy cautos y observar el comportamiento de un niño durante un tiempo.

PERSONAS MAYORES

Aunque a nivel cotidiano se piensa que las personas mayores son más proclives a los AA.TT., no hay evidencia de que el riesgo de éstos se incremen-

- te con la edad (42). Las características relacionadas con la tercera edad que influyen en los AA.TT. son las siguientes
- ▶ La tercera edad representan el 11% de población total (25% fallecidos en AT)
 - ▶ Pueden tener patologías físicas y psicológicas. Demencia.
 - ▶ A veces aparecen dificultades en la percepción (hipoacusia, presbiopía...)
 - ▶ Pueden presentar falta de habilidad y agilidad. Los tiempos de reacción pueden verse incrementados.
 - ▶ Algunos accidentes se producen por exceso de confianza al cruzar la calzada o fallos en percepción de distancias y velocidades (como conductor o peatón).
 - ▶ Suelen conducir menos que los jóvenes, lo cual puede incrementar el riesgo de AT, pero esto no indica que los accidentes se produzcan más (42).
 - ▶ Hay mayor riesgo de complicaciones físicas y psicológicas tras el AT.
 - ▶ La ingesta de fármacos puede dar lugar a interacciones que actúen como desencadenantes del AT o como elemento concomitante.
 - ▶ Pueden tener mayor número de ideas fijas y rígidas.
 - ▶ Algunos son reticentes a ser atendidos.
 - ▶ En ciertas personas se da sensación de urgencia / muerte inminente.

Actuación con personas mayores

Las personas de edad avanzada en AA.TT. pueden mostrar varias situaciones (29): separación, pérdida de miembros de la familia, aislamiento, desamparo, pérdida de apoyo. Las pautas de actuación con estas personas pueden ser las siguientes:

- ▶ Tener siempre paciencia y respeto.
- ▶ Preguntar por la medicación que están tomando y si ya han tomado la dosis prescrita para ese momento. Algunas reacciones pueden ser efectos secundarios o falta de administración del fármaco.
- ▶ Prestar atención a deficiencias sensoriales y/o motrices, pero no presuponerlas de antemano (41).
- ▶ Repetir la información de varias formas, si se aprecia que le cuesta entender lo que queremos transmitir.
- ▶ Preguntar si podemos ayudar en algo y en qué necesitan ayuda (41).

- ▶ Asegurarle la vigilancia de sus pertenencias.
- ▶ Preguntar a los acompañantes si hay discrepancias sobre cómo es normalmente y cómo se está comportando en ese momento.
- ▶ Explicar las cosas de manera clara; hablar despacio.
- ▶ Prestar atención a sus necesidades religiosas. (si se produce un fallecimiento y es posible facilitar apoyo espiritual en los primeros momentos, es mejor ofrecerlo con anterioridad al deceso) (29). A muchos les puede ayudar más hablar con un sacerdote que con un psicólogo.

Finalización de la intervención psicológica

Existe una preocupación por el momento en que finaliza la intervención psicológica (24). La forma correcta de efectuar la terminación de la relación de ayuda tiene una gran influencia en la eficacia de la misma y puede tener repercusiones negativas cuando no se cuida o no se realiza de forma adecuada. También el modo de finalizar (34) contribuye a la valoración que hace la persona de la misma y al esfuerzo que está dispuesto a hacer para mantener a posteriori los resultados obtenidos.

No hay que olvidar que en emergencias cotidianas, como las que nos ocupan, algunos autores (43) han evidenciado un incremento de la sintomatología asociada a TEPT, a trastornos depresivos y de ansiedad. Se pueden producir otras secuelas psicológicas que perturban la vida cotidiana de los afectados, que pueden requerir rehabilitación neuropsicológica (17).

La intervención psicológica después del AT termina cuando la persona se encuentra normotímica (nivel basal psicológico - emocional), otro profesional cualificado se hace cargo de la atención psicológica o la persona es acompañada por un adulto de confianza que se encuentra eutímico (en un estado psicológico óptimo o no afectado por el AT, si también lo ha sufrido).

También puede finalizar a petición del sujeto o de padres/tutores en el caso de menores o discapacitados psíquicos. En este caso, si el profesional considera que es necesaria la asistencia psicológica, el afectado firmará un documento de renuncia voluntaria a la atención profesional.

Además se pueden informar sobre reacciones normales (inquietud, insomnio, anorexia, flash-

backs,...) y/o dar pautas o recomendaciones para las próximas horas o días: acudir a su médico de atención primaria, o psicólogo/psiquiatra habitual, procurar comer, beber agua o dormir (aunque no sienta necesidad de ello), qué hacer o dónde acudir si hay empeoramiento psicológico (llamar al 112, acudir a urgencias de un hospital general con la hoja de asistencia del lugar del AT...).

En algunos casos se puede derivar a los afectados o a sus familiares a grupos de autoayuda posteriores, para ayudarles a procesar la situación vivida, el alcance de sus lesiones o la pérdida de un ser querido. Sirva como ejemplo la asociación de Ripollet «Un nou horitzó» cuyos padres sufrieron la pérdida de sus hijos en el accidente de Golmayo (Soria).

CONCLUSIONES

1. La atención psicológica en los AA.TT. es necesaria para proporcionar una atención integral a las personas implicadas, para ayudarles a manejar sus reacciones.
2. Si el estado emocional de la víctima es óptimo, el pronóstico y la recuperación de secuelas físicas y psicológicas es mejor.
3. Realizar una intervención precoz y especializada, durante la gestación de la crisis podría ayudar a prevenir secuelas psicológicas posteriores que pueden enraizarse en el sujeto.
4. Durante la intervención psicológica urgente en AA.TT. es importante vigilar *in situ* la evolución de las reacciones y facilitar la derivación a recursos especializados, cuando proceda.

CASO PRÁCTICO

Se ha producido un AT en la carretera de salida de una ciudad de tamaño mediano. Son las 8:00 de un sábado por la mañana. Se trata de un choque frontal entre dos coches: el que entraba a la ciudad no tiene tiempo de reducir la velocidad y el que sale empezaba a acelerar.

En un vehículo viaja un adulto joven que regresa a su domicilio tras una noche de diversión y con un nivel de alcoholémia por encima de los límites permitidos; en el otro auto unos abuelos con sus nietos pequeños de 5 y 8 años.

En el momento en que se produce el impacto otros coches presencian lo ocurrido y se detienen

para ver lo sucedido y/o ayudar; una pareja de jubilados paseaba junto a la carretera en el momento de la colisión y casi son atropellados.

Una familia con sus hijos que viven en una casa unifamiliar escuchan el golpe y se asoman a la ventana: la madre empieza a gritar pidiendo ayuda. El accidente ha sido grave. Algunas de las personas que se encontraban cerca y han visto u oído el accidente también se aproximan a ayudar.

Pasados unos minutos, se escuchan a lo lejos ruidos de sirenas. Llegan 2 ambulancias (una unidad medicalizada de emergencias – UME - del 112 y una ambulancia de Soporte Vital Básico – SVB – de Cruz Roja. La Guardia Civil se dispone a ordenar el tráfico. El personal de las ambulancias saca el material para atender a los heridos.

El abuelo presenta heridas graves (TCE, fractura abierta de fémur con pérdida de masa muscular) y está atrapado; la abuela tiene algunos cortes y heridas de menor importancia, empieza a ponerse muy nerviosa y desencadena una crisis de ansiedad; los niños han notado el fuerte choque pero no se aprecian lesiones aparentes en ellos; el ocupante del otro coche está ileso, pero preocupado por las heridas que han sufrido quienes viajan en el otro coche.

Tras unos pocos minutos más llegan los bomberos para excarcelar a la persona mayor atrapada. Más personas que pasan por allí en esos momentos se paran para ver lo que sucede.

El conductor del coche que viajaba sólo se muestra hiperactivo e irritable, andando sin cesar por el lugar del accidente. Los niños que viajaban en el coche con sus abuelos contemplan paralizados todo el trabajo de los servicios de emergencia; se aprecia el miedo en su rostro y parece que van a comenzar a llorar.

Aunque sólo hay un herido grave, hay un grupo importante de personas que están afectadas psicológicamente.

Actuación con los involucrados

Organización y aspectos previos a la intervención:

- Crear un área de trabajo para los intervenientes y, al mismo tiempo, un área de seguridad para el resto de las personas que se encuentran en el lugar del accidente.

- Coordinación, información y supervisión de la intervención realizada, por parte del médico regulador de sala del 112.
- Petición a las personas que presencian la intervención de los servicios sanitarios y de Guardia Civil en el AT que se mantengan en el área destinada a su seguridad y a favorecer la actuación de los intervenientes.
- Coordinación entre los distintos intervenientes para transmitir las mismas pautas de atención psicológica y distribuir quién se encarga de la actuación psicológica con cada afectado y en qué momento.
- Derivación a la psicóloga de las personas que presenten reacciones emocionales difíciles de manejar para el resto de los intervenientes.
- Observación continua de las reacciones y signos de malestar psicológico en las personas que se encuentran en el lugar del AT, por si alguna requiera atención médica o psicológica como consecuencia del accidente.

Personas involucradas /afectadas en el accidente de tráfico

- Víctimas directas: viajan en uno de los coches.
- Víctimas indirectas: testigos que han presenciado el accidente o han colaborado en la prestación de ayuda a los ocupantes de los coches. No fue necesario la atención al resto de los intervenientes (aunque el personal sanitario comentó repetidamente que nunca había visto lesiones tan graves en una pierna).

Agentes de intervención psicológica

- Personal sanitario (Médico, enfermera, técnicos de emergencias), Bomberos y Guardia Civil: Primeros Auxilios Psicológicos a los afectados.
- Psicóloga (acompaña al equipo sanitario en esta intervención): Intervención especializada ante la crisis de ansiedad de la abuela y exacerbación de reacciones de las otras personas afectadas por el AT.

Objetivos de intervención

- Disminuir la angustia y la ansiedad asociada a los primeros momentos del AT.

- Normalizar reacciones psicológicas (emocionales, cognitivas, conductuales...)
- Proporcionar información clara, organizada y tranquilizadora a todas las víctimas directas, en función de sus necesidades.
- Estabilizar psicológicamente a los afectados de manera directa o indirecta.
- Disminuir el número de secuelas psicológicas y la duración de las mismas en el tiempo.
- Prevenir el desarrollo de un trastorno de estrés postraumático (TEPT).

Intervenciones psicológicas concretas

Niños involucrados:

- Favorecimiento del relato de lo visto /sentido por los menores en el AT (38)(39). Desensibilización de asociaciones de estímulos sensoriales presentes en la situación.
- Impedir la visión de escenas y estímulos de alto impacto psicológico, relacionados con el AT (40). Esto incluye también a los niños que están viendo el accidente desde su casa; para ello se dan pautas a los padres para que hablen con sus hijos de lo sucedido.
- Explicación de lo sucedido a sus abuelos (teniendo en cuenta su estado) con vocabulario sencillo y tono tranquilizador (38) y aclarando sus concepciones erróneas (15).
- Explicación de la actuación de los servicios de emergencia y por qué están llevando a cabo cada acción.

- Respuesta a las preguntas planteadas por ellos, poniéndose a su altura para hablar.
- Facilitar que vean a su abuela, después de la recuperación de la crisis de angustia, y a su abuelo estabilizado, de manera previa a la evacuación al hospital (ambos niños solicitaron ver cómo estaba su abuelo). Antes de ver al abuelo se les explicó para qué le servía el material médico que le habían colocado (38).

Personas mayores involucradas:

- Escucha activa (44) del relato del AT.
- Explicación de las lesiones físicas que presentan y cuál va a ser la actuación de los equipos sanitarios y de bomberos, respecto a ellos.

► Repetir la información las veces necesarias, empleando frases cortas que permitan la comprensión de la situación. Hablar despacio. También a la pareja de personas mayores que estuvieron muy cerca de ser atropellados.

► Asegurar que los nietos han sido valorados y están bien, y que serán vigilados durante un tiempo para asegurarse de que no existen lesiones.

► Trabajo específico (por parte de la psicóloga) sobre la crisis de ansiedad: explicación de desencadenantes y reacciones de la ansiedad, técnica de respiración diafragmática (45) en posición sentada, ingestión de agua a pequeños sorbos para regularizar respiración e hidratación tras la hiperventilación, observación pendiente de evolución por si fuera necesario la administración de un ansiolítico benzodiacepínico.

► Establecimiento de redes (46). Pregunta sobre qué personas deben ser avisadas de lo sucedido (padres de los niños) y manera de contactar con ellas; dando información precisa y positiva sobre lo sucedido y el estado de las víctimas (asesoramiento de la psicóloga a Guardia Civil y médico de la UME respecto a la mejor manera de hacerlo).

► Con la abuela afectada (por parte de la psicóloga), técnica de orientación anticipatoria (47) y diálogo orientado consigo mismo (48) ante las verbalizaciones catastrofistas sobre su recuperación por el AT.

Conductor ileso:

- Vigilancia de conductas de deambulación peligrosa por la carretera, para evitar el atropello (la contención física no fue requerida).
- No juzgar ni culpabilizar por lo ocurrido (especialmente en los primeros momentos).
- Mostrar disposición de ayuda para favorecer su situación personal y minimizar las consecuencias (legales, entre otras) por el accidente en las personas afectadas directamente.
- Reestructuración cognitiva (48) (49), de distorsiones o atribuciones erróneas sobre lo sucedido.
- Trabajo sobre la culpabilidad (por parte de la psicóloga).

La intervención psicológica finalizó cuando las personas afectadas se encontraban en un estado psicológico normalizado (niños y abuela; conductor del otro vehículo), cuando el abuelo se estaba

sedado, previo al traslado al centro hospitalario y en el momento en que las personas presentes en el lugar del accidente se fueron dispersando y no se apreciaba en ellos signos de malestar psicológico por la situación presenciada.

A las víctimas directas se le dio información de posibles síntomas normales /esperables en los dí-

as posteriores (ansiedad, imágenes relacionadas con el AT, insomnio, poco apetito...) y en qué momentos sería necesario acudir a un profesional. Se informó a los padres y a la abuela de cuáles podrían ser las reacciones de los niños y qué signos indicarían la necesidad de ser vistos por un psicólogo infantil.

Referencias bibliográficas

1. Montoro L, Carbonell E, Sanmartín J, Tortosa F. Seguridad vial: del factor humano a las nuevas tecnologías. Madrid: Síntesis, 1995.
2. Montoro L, Alonso F, Esteban C, Toledo F. Manual de seguridad vial: el factor humano. Barcelona: Ariel, 2000.
3. Ruano A. Problemas mentales y psicológicos. En: Accidentes de tráfico: El día después. II Jornadas MAPFRE sobre Medicina y Seguridad Vial. Madrid: Instituto MAPFRE de Seguridad Vial, 1999.
4. Ruano A. El psicólogo en un centro de rehabilitación de afectados por accidentes de trabajo y/o tráfico. En: Remor E, Arranz P, Ulla S. (Eds.) El psicólogo en el ámbito hospitalario. Bilbao: Desclée De Brouwer, 2003.
5. Cogollos M. ¿Y después qué? En: Accidentes de tráfico: El día después. II Jornadas MAPFRE sobre Medicina y Seguridad Vial. Madrid: Instituto MAPFRE de Seguridad Vial, 1999.
6. VV. AA. Salvar 20.000 vidas en nuestras carreteras: una responsabilidad compartida. Unión Europea. Bélgica. Oficina de Publicaciones Oficiales de las Comunidades Europeas, 2003.
7. Estevan A. Los accidentes automovilísticos: una matanza calculada. Sistema: revista de Ciencias Sociales. 2001; 162 – 163: 203-17.
8. Nicolás L De, Artetxe AI, Jáuregui A, López S. Intervención psicológica en situaciones de emergencia y desastres. Servicio central de publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria, 2000.
9. Blanchard EB, Hickling EJ. After the crash. Psychological Assessment and Treatment of survivors of Motor Vehicle Accidents. Washington (USA): American Psychological Association; 2004.
10. VV.AA. Accidentes de tráfico. Guía práctica de prevención. AESLEME. Madrid: Santillana; 2000.
11. Aisa A, Jorge R, Juncá R. Biblioteca de Prevención de Riesgos Laborales. Volumen 3: Técnicas afines a la prevención. Barcelona: CEAC; 2000.
12. Hebert KL, Porter BE. The likelihood of becoming a pedestrian fatality and drivers' knowledge of pedestrian rights and responsibilities in the Commonwealth of Virginia. Transportation Research. Part F: Traffic Psychology and Behaviour; 2004. 7: 43-8.
13. Robles JI, Medina JL. Intervención psicológica en catástrofes. Madrid: Síntesis; 2002.
14. Rotger D. La preparación psicológica del bombero y otros miembros de grupos de rescate. Su aceptación al estrés y los primeros auxilios psicológicos a víctimas. MAPFRE Seguridad, Segundo trimestre 1999. nº 74.
15. Moreno R, Peñacoba C, González – Gutiérrez JL, Arroyo J. Intervención psicológica en situaciones de crisis y emergencias. Madrid: Servicio de Publicaciones. Universidad Rey Juan Carlos; 2003.
16. Lucas JL. Drivers' psychological and physical reactions alter motor vehicle accidents. Transportation Research. Part F: Traffic Psychology and Behaviour. 2003. 6: 133-45.
17. Fernández Guinea S, Espinosa A, Rubin E. Intervención en las secuelas emocionales y conductuales de lesiones cerebrales traumáticas. En: Cerebro y Salud Mental. Madrid: MAPFRE Medicina; 2002.
18. Val MS Del, Lillo A. Un grave accidente. En: Márquez A. (Coord.) La familia ante momentos difíciles. Comunidad de Madrid. Consejería de Familia y Asuntos Sociales. 2004: 118-21. URL consultado el 11 de abril de 2005. Disponible en: www.madrid.org/cservicios-sociales/dg_familia/moment_dif_05.pdf
19. Martín J, Parada E, Muñoz FA. Triage psicológico en situaciones críticas con múltiples afectados. En: Ramos R, García A, Parada E. (Coord) Psicología aplicada a crisis, desastres y catástrofes. UNED: Centro Asociado de Melilla; 2006.
20. Alexander DA. The presentation of adult symptoms. En: Hickling EJ, Blanchard EB. Road traffic accidents & Psychological trauma. Current understanding, treatment and law. Oxford (UK): Elsevier Science Ltd; 1999.
21. Rivas J, Mora E, Ugas L, Casaus P, Puigdevall M, Peña J, García X. Intervención psicológica y psiquiátrica en emergencias. Propuesta de un modelo de actuación. Revista de Psiquiatría de la Facultad de Medicina de Barcelona. 2002. 29 (4): 241-248.
22. Fernández Millán JM. (Coord.) Apoyo psicológico en situaciones de emergencia. Madrid: Pirámide; 2005.
23. Arnaud M. Les blessés de la route. Du prompt-secours au bord de la route à l'accueil au centre chirurgical. París (Francia): Maison & Cie; 1961.
24. Fernández Liria A, Rodríguez Vega B. Intervención en crisis. Madrid: Síntesis; 2002.
25. Fernández Peces P. Una niña de nueve años afectada por accidente de tráfico. En: V Jornadas de Orientación Familiar. Madrid: MAPFRE Medicina; 1998.
26. Arranz P, Cancio H. Una herramienta básica del psicólogo hospitalario: el counselling. En: Remor E, Arranz P, Ulla S. (Eds.) El psicólogo en el ámbito hospitalario. Bilbao: Desclée De Brouwer; 2003.
27. Maslow AH. Motivación y personalidad (3^a ed.) Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 1987.
28. Rodríguez Fernández M. Intervención psicológica en desastres: un proyecto de trabajo. Papeles del psicólogo. Septiembre 1997. N° 68.
29. Valero S. Psicología en emergencias y desastres. Lima (Perú): San Marcos; 2002.
30. Orengo F. Sobre psicotraumatología. Psiquis; 2002. 23(5): 173-177.
31. Bloom SL. En: Hickling EJ, Blanchard EB. Road traffic accidents & Psychological trauma. Current understanding, treatment and law. Oxford (UK): Elsevier Science Ltd; 1999.
32. Navío M, Leira M, Quintero FJ. Urgencias psiquiátricas en situaciones especiales. D- Paciente en crisis. En: Chinchilla A. (Coord.) Manual de urgencias psiquiátricas. Barcelona: Masson; 2003.
33. Cano J, Gala FJ, Lupiani M, Guillén C, Roa JM, Lupiani M. Consecuencias psicopatológicas de las catástrofes y desastres: el síndrome de estrés postraumático. Psiquis; 2004. 25 (1): 4-11.
34. Madrid J. Los procesos de la relación de ayuda. Bilbao: Desclée de Brouwer; 2005.
35. Parada E. Psicología aplicada al salvamento y socorrismo. En: Palacios J, Iglesias O, Zanfaño J, Angueira G, Parada E. Salvamento Acuático, Salvamento Deportivo y Psicología. (3^a ed). Coruña: Xaniño; 1998.
36. Rivera E. Prevención de Accidentes de Tráfico infantiles. Infancia y Sociedad: Revista de Estudios; 1991. 11: 76-93.
37. Stallard P. Children and young people: The neglected victims of road traffic accidents. En: Hickling EJ, & Blanchard EB. Road traffic accidents & Psychological trauma. Current understanding, treatment and law. Oxford (UK): Elsevier Science Ltd; 1999.
38. Ramos R, García A. Intervención psicológica en desastres con niños. Granada: Grupo Editorial Universitario; 2002.
39. Costa A, De Gracia M. Debriefing y tria psicológica en intervención en crisis: una revisión. Psiquis.2002. 23 (5): 198-208.
40. Mayou R. Medical, social and legal consequences. En: Hickling EJ, Blanchard EB. Road traffic accidents & Psychological trauma. Current understanding, treatment and law. Oxford (UK): Elsevier Science Ltd; 1999.
41. López A, Urkía C, Rodrigo J. (Eds.) Servicios preventivos. Modulo III: Primeros auxilios psicológicos y apoyo humano. Manual del monitor. Madrid: Cruz Roja Española; 2003.
42. Hakamies – Blomqvist L, Raitanen T, O'Neill D. Driver ageing does not cause higher accident rates per km. Transportation Research. Part F: Traffic Psychology and Behaviour. 2002. 5 (4): 271 – 274.
43. Nevado M, Losada D, Martínez R, Hernández – Coronado A, Fouce G, Lillo A. Valoración de la calidad de un servicio de intervención en emergencias cotidianas de una gran ciudad española, con respecto a accidentes de tráfico. Clínica y Salud, 1998. 2, 489-508.
44. Carkhuff RF. Helping and Human Relation. New York: Holt, Rinehart & Winston; 1969.
45. Rawls ES. A handbook of yoga. New York: Pyramid Books; 1974.
46. Rueveni U. Networking family in crisis: Intervention strategies with family and social networks. New York: Human Sciences Press; 1979.
47. Caplan G. Principles of preventive psychiatry. New York: Basic Books; 1964.
48. Meichenbaum DH. Cognitive behavior modification: an interpretative approach. New York: Plenum Press; 1977.
49. Ellis A. Growth through reason (2nd ed.). Hollywood, Calif.: Wilshire Books; 1974.

Estudio atraumático de la actividad simpática, sensibilidad de los baroreceptores y del volumen sistólico, decúbito y ortostatismo en sujetos sanos, maniobra de Valsalva. Para su aplicación en el estudio del síncope. Posibilidades de indicación terapéuticas

Non invasive assessment of sympathetic activity, baroreflex sensitivity and stroke volume in orthostatic and supine positions as well as after Valsalva's maneuver to be used in the study of syncope and its therapeutic application

López-Vidriero Tejedor E.¹, Arraez Aybar L A²,
López-Vidriero Abelló E.³

¹ Unidad de Hipertensión. Hospital General Universitario, Gregorio Marañón

² Departamento de Anatomía y Embriología Humana II. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid

³ Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid
Unidad de Hipertensión. Hospital General Universitario, Gregorio Marañón

RESUMEN

La hipotensión ortostática(HO) ha sido estudiada escasamente de forma atraumática. Valoramos el índice de actividad simpática(IAS), la sensibilidad de los baroreceptores(SBR) por análisis espectral. Registro continuo de la presión arterial(PA)(finapres). Resistencias periféricas totales(RPT) y del volumen sistólico(VS) con cardiografía con impedancia. Hemos realizado dos estudios, Tipo I: en 24 sujetos sanos, con ortostatismo(O) vs supino: IAS aumenta de $0,601 \pm 0,10$ a $2,214 \pm 0,43$ U($p < 0,001$) y la SBR disminuye de $17,72 \pm 2,28$ vs $7,83 \pm 0,75$ mseg/mmHg($p < 0,05$). Estudio II 14 sanos: Supino presentan PA: $127,46 \pm 3,52$ /80,38 ± 1,54mmHg,pulso: $68,52 \pm 2,10$ lpm,VS/m2: $40,92 \pm 4,50$ ml/m2, RPT/m2: $0,71 \pm 0,16$ mmHg/ml/m2. En O el descenso máximo de la PA -33,39± 6,20 / -15,95± 3,66 mmHg ($p < 0,001$). Las cifras medias a los 5'0 vs supino PAM : $95,95 \pm 4,05$ mmHg(ns),pulso: $75,60 \pm 3,06$ lpm(ns), VS/m2: $30,05 \pm 2,24$ ml/m2(ns), RPT/m2: $0,92 \pm 0,10$ mmHg/ml/m2(ns). Con el Test.Valsalva. basal vs F.II_E con descenso de PA:- $25,86 \pm 5,19$ / $8,72 \pm 3,42$

ABSTRACT

There is little knowledge in the field of orthostatic hypotension (OH) based on non invasive procedures. Sympathetic activity index (SAI), baroreflex sensitivity (BRS) were measured by spectral analysis. Blood pressure (BP) by continuous recording with Finapres. Lastly, Total peripheral resistances (TPR) and systolic stroke volume (SV) by impedance cardiography. Two protocols were performed, I: 24 healthy volunteers in orthostatic position vs supine: SAI increases $0,601 \pm 0,10$ to $2,214 \pm 0,43$ U($p < 0,001$). In addition, BRS decreases in supine $17,72 \pm 2,28$ vs $7,83 \pm 0,75$ ms/mmHg($p < 0,05$). Protocol II, 14 healthy volunteers were included: variables in supine were: BP: $127,46 \pm 3,52$ /80,38 ± 1,54mmHg, Heart rate (HR): $68,52 \pm 2,10$ bpm, SV/m2: $40,92 \pm 4,50$ ml/m2, TPR/m2: $0,71 \pm 0,16$ mmHg/ml/m2. Maximum drop in BP orthostatic position -33,39± 6,20 / -15,95± 3,66 mmHg ($p < 0,001$). Mean variables after 5 minutes in orthostatic position vs supine were: MAP: $95,95 \pm 4,05$ mmHg(ns), HR: $75,60 \pm 3,06$ bpm(ns), SV/m2: $30,05 \pm 2,24$ ml/m2(ns), TPR/m2: $0,92 \pm 0,10$

Correspondencia:
E. López-Vidriero Abelló
Unidad de Hipertensión
Hospital Gregorio Marañón. Madrid

Beca de Investigación de FUNDACIÓN MAPFRE.

López-Vidriero Tejedor E, Arraez Aybar LA,
López-Vidriero Abelló E

Hemodinámica sanos, test Valsalva y postural

mmHg($p < 0,001$) y de VS/m2: $-19,95 \pm ,67$ ml ($p < 0,05$), aumento de pulso: $9,36 \pm 2,70$ lpm($p < 0,05$), índice baroreflejo cardíaco $r = -0,87$ ($p < 0,01$). Estos datos facilitan posteriores estudios de pacientes con síncope, siendo un método incruento. Se ha empleado análisis estadístico pareado no paramétrico Wilcoxon y prueba de Newman-Keuls entre grupos.

Palabras claves:

Hemodinámica, índice de actividad simpática, sensibilidad baroreceptores, test de Valsalva, test postural, síncope, finapres, cardiografía con impedancia.

MAPFRE MEDICINA, 2007; 18 (4): 358-368

mmHg/ml/m2(ns). After Valsalva's maneuver: baseline vs F.II_E BP diminishes: - $25,86 \pm 5,19$ / $8,72 \pm 3,42$ mmHg($p < 0,001$) as well as SV/m2: $-19,95 \pm ,67$ ml ($p < 0,05$), HR increases: $9,36 \pm 2,70$ bpm($p < 0,05$), baroreflex cardiac index $r = -0,87$ ($p < 0,01$). Statistics were calculate by paired non parametric Wilcoxon and Newman-Keuls tests in between groups. These results will help, as reference, to study those patients with syncope, by means of non invasive methods.

Keywords:

Hemodynamics, sympathetic activity index, baroreflex sensitivity, Valsalva's maneuver, syncope, tilt test, finapres, impedance cardiography.

OBJETIVO

La hipotensión ortostática(HO) esta caracterizada por una hipotensión transitoria y una bradicardia relativa. Tiene una fisiopatología diversa, entre ellas figura, el fallo de la actividad simpática y/o de los baroreceptores(1) para mantener la presión arterial(PA) y/o del mantenimiento del volumen sistólico durante el ortostatismo, llegando a producirse el síncope por cifras muy bajas de PA. El mantenimiento de la PA depende de las resistencias periféricas (RPT) y del volumen sistólico (VS).

Pretendemos comprobar en sujetos sanos las variaciones de sensibilidad de los baroreceptores(SBR), índice de actividad simpática(IAS) en supino y ortostatismo; VS y RPT mediante estudio hemodinámico no invasivo durante dos de las maniobras que suelen emplearse en el estudio de síndrome de HO como son el test de Valsalva y test postural ortostático.

La medición de la actividad simpática tiene gran relevancia fisiológica sobre el corazón y la circulación periférica dado que controla la frecuencia cardíaca, la presión arterial tanto en reposo como ante estímulos fisiológicos, así como el ortostatismo (2) y los cambios fisiopatológicos por enfermedades que afectan directa o indirectamente al sistema cardiovascular como son las disautonomías (3). La depleción de volumen sistólico por el test postural y Valsalva es el origen de los cambios de la presión arterial.

El estudio continuo de la PA, VS, RPT (4-5), es la única forma de poder establecer los límites de normalidad en los test postural y de Valsalva y para posterior empleo en el estudio de la HO.

MATERIAL Y MÉTODO

La causa de la hipotensión arterial ortostática primaria, tiene como uno de los factores principales la falta de regulación de la presión arterial por fallo de los baroreceptores (6).

Se han realizado dos tipos de estudios: Estudio I en 25 sujetos sanos en el que se analiza la influencia de ambos tipos de maniobras sobre la actividad simpática y un segundo estudio con un subgrupo del primero de 14 sanos, en el que se analiza el efecto de las mismas maniobras sobre las variables vasculares como son el VS, RPT y la PA.

Estudio I

25 sujetos sanos con edades comprendidas entre 16 y 66 años con una media de $39,14 \pm 2,48$, mujeres 62%, peso $67,5 \pm 5,9$, talla: $165,83 \pm 1,55$, índice de masa corporal: $4,49 \pm 0,82$, en decúbito supino presión arterial: $100,82 \pm ,75$ / $61,78 \pm 2,04$ con pulso: $71 \pm 1,88$, en ortostatismo: $103,57 \pm 1,99$ / $61,91 \pm 1,76$ con un pulso: $75,5 \pm 2,24$, a los cuales se les ha realizado un estudio de la sensibilidad de los baroreceptores, actividad simpática a las 9h., durante 5 minutos

previa estabilización de 10 minutos tanto en supino como en ortostatismo.

El estudio de los barorreceptores y actividad simpática se realizó mediante el análisis espectral de la onda de presión obtenida a través de la salida analógica del Finapres(7).

La Conversión de analógico a digital se realizó mediante tarjeta tipo A/D (PC-LabCard modelo PCL-812 PG) con 16 canales de entrada, de 12 bit, convertidor HADC574Z), máximo de velocidad 30 KHz en modo DMA, rango de salida +/- 5 V a +/- 0,3 V. La velocidad de captación de los datos 100 datos/seg. Durante la captación de datos se controla la respiración para que cada ciclo dure 4 segundos con un metrónomo (8).

El tiempo de estudio es el necesario para obtener una serie de mas de 256 datos tanto para el intervalo de onda de pulso en milisegundos(similar a espacio R-R obtenido con E.C.G (12-13), como para PAS y PAD mmHG.(7-9).

Se obtiene sus estadísticos(media, varianza).

Antes del estudio de la serie se filtran los datos que presenten una fluctuación con un período mayor de 40 seg. (frecuencia =0,025Hz),mediante filtro digital de alta de 3 orden Butterworth(10)

Los datos son tratados mediante la transformada rápida de Fourier(FFT) mediante el programa MATLAB, obteniéndose el análisis espectral, calculado la potencia de la frecuencia total, eliminando las frecuencias menores de 0,003 Hz (consideradas ruido)(11).

La escala de frecuencia de oscilación (abcisas) es analizada sobre 0,5 Hz. El módulo del espectro de intervalo de espacio RR o de pulso, presión arterial sistólica y diastólica se da en latido/mseg.2/Hz o mmHg. 2/Hz (12-20).

La Curva correspondiente a la frecuencia alta de 0,15 a 0,35 Hz (bajo influencia respiratoria, y del sistema parasimpático) se detecta fácilmente localizando un pico en el espectro que corresponde a ,25 Hz si respiro cada 4 segundos (se puede hacer desaparecer al inyectar atropina) de pulso y PA.

La Curva que corresponde a la frecuencia baja de 0,075 a 0,15 Hz (combina el efecto parasimpático y simpático sobre la regulación del nodo sinusal con su traducción en el pulso, dado que el estímulo simpático actúa sobre la baja frecuencia espectral). Las denominadas ondas de Mayer

aparecen de 6 a 9 veces por minuto, con una frecuencia media espectral de 0,1 a 0,15 Hz (son ondas de más baja frecuencia que la respiratoria).

La Curva de muy baja densidad de 0,03 a 0,075 Hz la define Pagani como relacionada con la termorregulación, sistema renina-angiotensina y otros mecanismos (12).

Últimamente se ha comprobado en ratas una disminución del 70% de esta frecuencia en el análisis de la PAS, con la simpatectomía química (13).

Cálculo de BRS

Se emplea el método descrito por Pagani (14). Empleando el coeficiente alfa(la mitad de, raíz cuadrada de, alta frecuencia de pulso dividido por alta frecuencias de PAS, mas la raíz cuadrada de baja frecuencia de pulso dividido por la baja frecuencia de PAS.

$$\text{Índice alfa} = [(FB \text{ PP}/ FB \text{ PAS})0,5 + (FA \text{ PP}/ FA \text{ PAS})0,5]/2$$

Índice Símpatico

Índice simpático decúbito y ortostatismo mediante el análisis espectral de la onda de presión con el intervalo de pulso.

Índice simpático=baja frecuencia/alta frecuencia (11).

Estudio II

En cuanto al segundo protocolo, fue realizado en un subgrupo del estudio I, en 14 sujetos sanos con características generales (ver Tabla 1). En los cuales se ha realizado a las 9 h. el estudio hemodinámico atraumático para calcular PA,VS y RPT durante el test Valsalva y el test postural.

Las variables de estudio fueron:

- Presión arterial continua con Finapres
- Cálculo del volumen sistólico(VS).

Mediante estudio de la 1ª derivada de la curva de la cardiografía con impedancia (NIHON KOHDEN) (15) y empleando un ECG incorporado al monitor Polígrafo.

MINOGRAF 87 SIEMENS-ELEMA: 4 canales (Figura 1) y con la medida de la presión arterial poder calcular la presión media: presión diastólica

la actividad colinérgica del corazón, ya que la atropina lo inhibe.

FASE -II_L: es la fase de «escape», a pesar de mantener la presión positiva se produce un aumento de la presión arterial debido a estímulo simpático

FASE -III: fase intermedia

FASE-IV: al final de la maniobra de Valsalva, al normalizar la presión intra torácica, se produce un incremento del volumen sistólico con aumento de la presión arterial, por encima de las cifras basales.

Tanto la fase -II_E como la fase IV son las que se alteran en la patología de la hipotensión ortostática debido fallo simpático neuro-circulatorio.

Una vez realizada la maniobra de Valsalva durante 15 segundos, se mantiene el registro 5 minutos para que se reestablezcan los parámetros de presión arterial.

Acabada la prueba se almacenan los datos para el ulterior análisis y cuantificación de la presión de insuflación, presión arterial sistólica, diastólica y media; volumen sistólico, resistencias periféricas en las diversas fases de la maniobra de Valsalva (16).

Medida del índice baroreflejo cardio-vagal

Se calcula con la correlación entre las variaciones de la PAS y las del pulso, en la fase II_E.

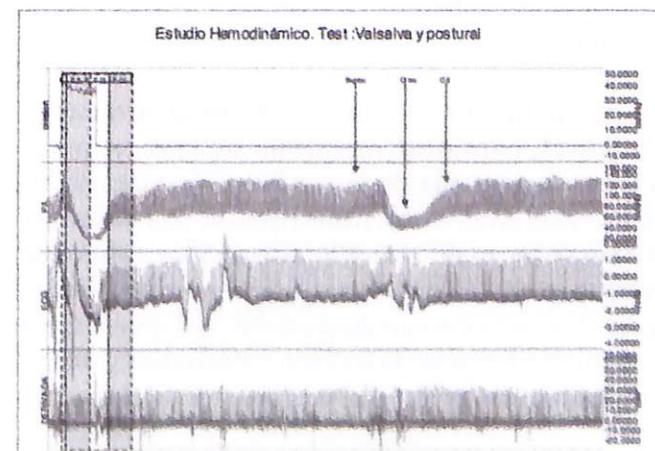


Fig. 1. Estudio hemodinámico: Registro de presión de insuflación (presión), Onda de presión (Finapres), Electrocardiograma (ECG), 1ª derivada de la cardiografía con impedancia(DERIVADA).Test de Valsalva: fase I(F.I), fase II_E(F.II_E), fase III(F.III), fase IV(F.IV), test postural: supino, descenso máximo PA(OMx), fase estabilización (O.E).

Desde que finaliza la fase I o de incremento tensional hasta que se produce el fenómeno de escape en la Fase II_L de la maniobra de Valsalva (Figura 1).

EL ESTUDIO HEMODINÁMICO DEL TEST POSTURAL

Se hizo el registro con la monitorización de la presión arterial (FINAPRES) cardiografía con impedancia (NIHON KOHEN), ECG, después de 10 minutos de estabilización acabada la prueba de Valsalva, manteniendo el ortostatismo más de 5 minutos (Figura 1).

Curiosamente, las variaciones individuales que presentan los sujetos sanos y los que presentan hipotensión ortostática han hecho que nuestros resultados los dividamos de una forma similar a la maniobra de Valsalva: basal(supino), pico máximo de hipotensión (Omx), fase de recuperación tensional (OE), en la cual se alcanzan valores similares a basal (Figura 1). La fase tardía de estabilización a los 5 minutos (O5'). Los tiempos de aparición de la fase Omx y OE varían relativamente poco en los sujetos sanos, pero el caso de hipotensión ortostática puede variar hasta casi los 15 minutos, es por lo que se aconseja el mantenimiento de ortostatismo de más de 15 minutos para que aparezca la hipotensión ortostática (17).

Estadística

Los resultados se han almacenado en una tabla Excel, para posteriormente obtener la media y el error estándar de la media. El estudio de los datos pareados se ha hecho con el test no paramétrico pareado de Wilcoxon. El análisis de Anova prueba de Newman-Keuls entre grupos, para los diferentes estados del test postural y Valsalva. La significación estadística se ha aceptado a $p<0,05$.

RESULTADOS

El análisis de la SBR en decúbito supino vs ortostatismo, se observa una disminución significativa al pasar del decúbito $17,72 \pm 2,28$ vs ortostatismo $7,83 \pm 0,75$ mseg/mmHg $p<0,05$ (Figura 2).

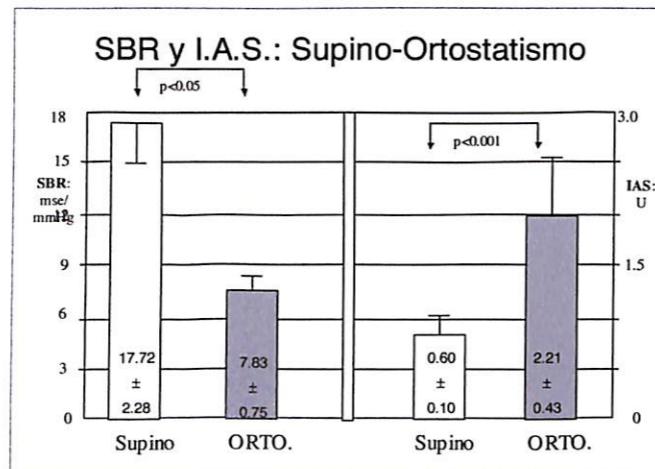


Fig. 2. Variaciones de sensibilidad baroreceptores(SBR) y del índice de actividad simpática(IAS) supino vs ortostatismo.

Estudiando la sensibilidad de los baroreceptores asimismo hemos observado que estos varían según la edad, hecho ya referido por otros autores(18). En decúbito como en ortostatismo, teniendo una correlación negativa en decúbito $r = -0,52$ $p=0,007$.

En ortostatismo desaparece esta correlación $r = 0,19$ $p=0,32$.

Existe una correlación positiva significativa entre la sensibilidad de los baroreceptores en sanos entre decúbito y el ortostatismo $r=0,40$, $p=0,04$.

El índice de actividad simpática aumenta significativamente($p<0,001$) al pasar de supino a ortostatismo de $0,601 + 0,102$ a $2,214 + 0,43$ U. (Figura 2).

Hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre la actividad simpática en decúbito y ortostatismo($r=0,53$, $p<0,01$).

El estudio hemodinámico del test postural

Basalmente (supino) las cifras de MAP, Pulso, VSm² y RPTm², están especificadas en la tabla II y Figuras 1 y 3).

En el pico máximo de hipotensión (Omx) aparece en un tiempo con rango de 3,46 a 10,64 con una media de $6,22 \pm 0,61$ segundos. Se aprecia un descenso significativo del VSm² $14,66 \pm 2,18$ ml/m². ($p<0,01$), como consecuencia se produce una disminución significativa de la PAS de $33,39 \pm 6,20$ mmHg, ($p<0,001$) y de PAD de

TABLA 2. Variaciones de Tiempo en seg (Tiempo seg.), PAM, Pulso, VSm², RPTm² durante el test postural: decúbito supino(supino), bajada máxima de presión arterial (Omx), fase de estabilización de la presión arterial(OE), fase tardía a los 5 minutos de ortostatismo (O5')

	Supino	Omx	OE	O5'
Tiempo:seg.	0	6,22 0,61	15,25 1,04	300
PAM:mmHg	$87,77 \pm 3,19$	$66,01 \pm 4,91$	$85,17 \pm 4,33$	$98,95 \pm 4,05$
Pulso:lpm	$69,68 \pm 2,87$	$86,65 \pm 3,91$	$86,47 \pm 3,97$	$75,6 \pm 3,06$
VSm ² :ml/m ²	$34,09 \pm 2,99$	$19,43 \pm 2,32$	$32,84 \pm 2,69$	$30,05 \pm 2,24$
RPTm ² :mmHg/ml/m ²	$0,73 \pm 0,14$	$0,99 \pm 0,14$	$2,78 \pm 0,22$	$0,92 \pm 0,10$

Datos representados como media \pm esm

TABLA 3, Variaciones de Tiempo en seg(Tiempo seg.); PAM, Pulso, VSm², RPTm² durante el test Valsalval:basal, Fase I, Fase II_E, Fase III, Fase IV. Datos representados como media \pm esm

	BASAL	FASE I	FASE II_E	FASE III	FASE IV
Tiempo seg.	0	$2,72 \pm 0,35$	$10,04 \pm 0,59$	$19,96 \pm 0,55$	$23,68 \pm 1,50$
PAM	$88,28 \pm 3,45$	$109,50 \pm 5,01$	$73,85 \pm 5,21$	$95,59 \pm 4,58$	$105,84 \pm 6,75$
Pulso	$68,52 \pm 2,10$	$67,41 \pm 3,19$	$77,88 \pm 3,51$	$82,49 \pm 3,75$	$69,76 \pm 2,16$
VSm ²	$40,92 \pm 4,50$	$36,39 \pm 4,37$	$26,28 \pm 3,32$	$40,92 \pm 4,50$	$47,86 \pm 5,50$
RPTm ²	$0,71 \pm 0,16$	$1,90 \pm 0,21$	$0,86 \pm 0,14$	$0,86 \pm 0,14$	$0,78 \pm 0,11$

$15,95 \pm 3,66$ mmHg,($p<0,001$) y con un descenso de la PAM de $21,76 \pm 4,35$ mmHg($p<0,01$). El pulso sufre un incremento significativo de $16,97 \pm 3,68$ lpm.($p<0,01$) Las resistencias periféricas no varían, con un ligero incremento de $0,26 \pm 0,12$ mmHg/ml/m² (Tabla 2 y Figuras 1-3).

La tercera fase o de estabilización tensional (OE) vs supino aparece en un rango entre 25,76 a 10,11 segundos con una media de $15,25 \pm 1,04$ seg. La presión arterial tiene similares cifras que en basal con una diferencia no significativa de PAS $6,22 \pm 0,61$, de PAD: $0,79 \pm 0,14$ y PAM: $2,60 \pm 0,40$ a expensas del incremento significativo($p<0,01$) del pulso: $16,79 \pm 4,43$ y gran aumento de la RPT m²: $2,05 \pm 0,24$ mmHg/ml/m² ($p<0,01$), aparece la recuperación del VSm² : $1,25 \pm 3,50$ ml/m² similar a basal (Tabla 2 y Figuras 1-3).

En la cuarta fase o de mantenimiento tardío a los 5 minutos se precisa un aumento respecto a la basal de PAS no significativo: $10,65 \pm 7,01$ mmHg, aumento significativo($p<0,01$) de PAD: $11,44 \pm 3,1$ mmHg, y no significativo PAM:

$11,18 \pm 4,39$, pulso no significativo: $5,88 \pm 3,54$ lpm, RPTm² aumentan : $0,19 \pm 0,07$ mmHg/ml/m² no significativamente para mantener la presión arterial estable, mientras que se mantiene VSm²: $4,04 \pm 2,27$ ml/m². no diferente a supino (Tabla 2 y Figuras 1-3).

Maniobra de Valsalva

Una vez acabada la prueba se almacenan los datos para el ulterior análisis y cuantificación de la presión de insuflación, presión arterial sistólica, diastólica y media; volumen sistólico, resistencias periféricas en las diversas fases de la maniobra de Valsalva (Tabla 3, Figuras 1-4).

Cada caso presenta solamente variaciones interesantes de mencionar en cuanto el tiempo de duración de la fase II_E. Para explicación representamos un caso característico (Figura 1).

En general se aprecia en la fase I(E.I): basal vs F.I el aumento de la presión intra torácica aumenta bruscamente y en $2,72 \pm 0,35$ seg. la presión arterial aumenta la PAS en $26,30 \pm 6,09$

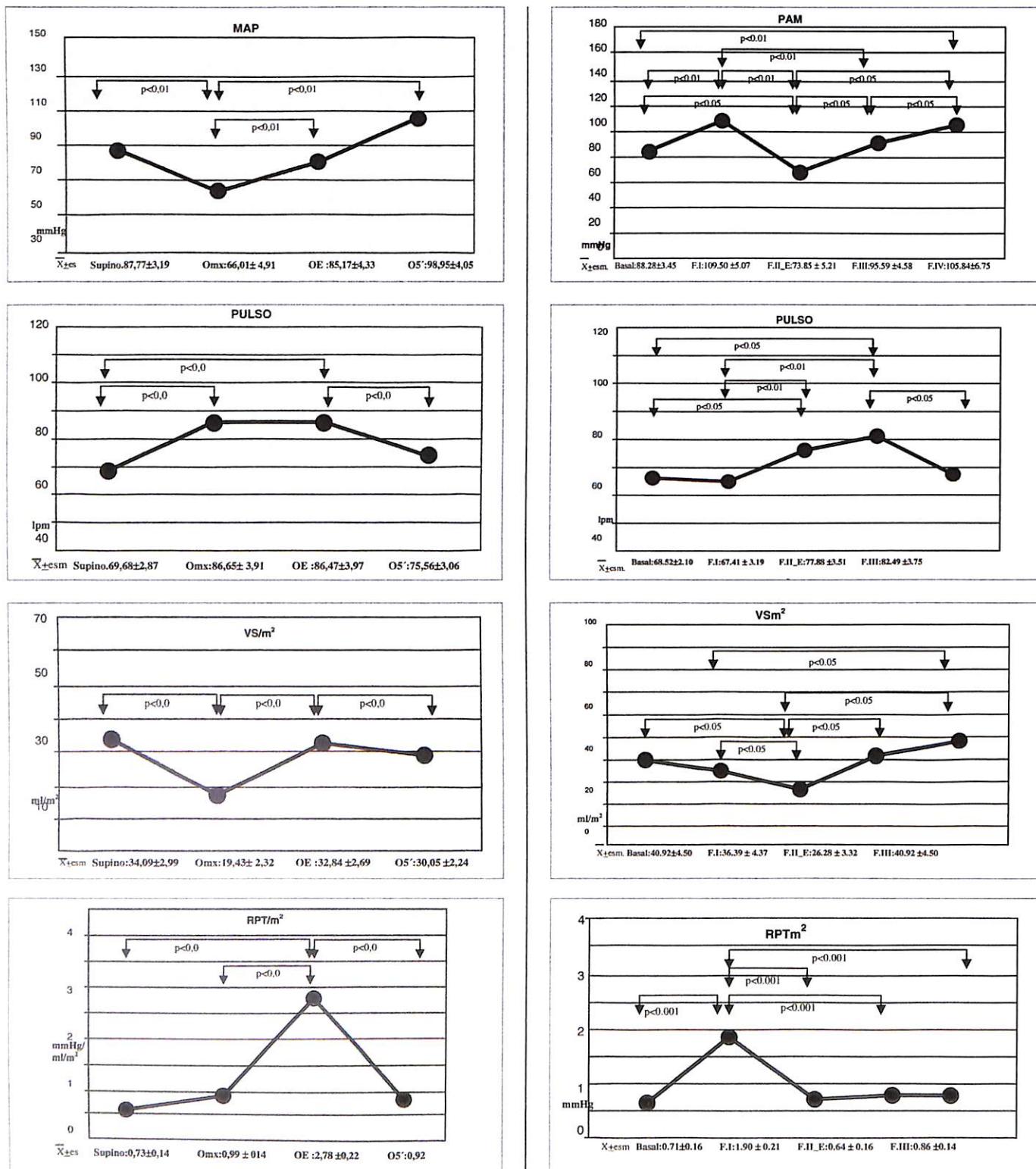


Fig. 3. Test Postural con las distintas variables coincidentes según las diferentes fases: supino, fase descenso máximo PA(Omx). Fase estabilización PA(OE), ortostatismo 5 minutos(O5'). Presión arterial media(PAM), Pulso, Volumen sistólico/m²(VSm²), Resistencias periféricas totales/m²(RPTm²). Significación estadística p<0,005.

Fig. 4. Test de Valsalva con las diferentes variables coincidentes según las fases: basal, Fase I(F.I), fase II_E(F.II_E), fase III(F.III), fase IV(F.IV). Presión arterial media(PAM), Pulso, Volumen sistólico/m²(VSm²), Resistencias periféricas totales/m²(RPTm²). Significación estadística p<0,005.

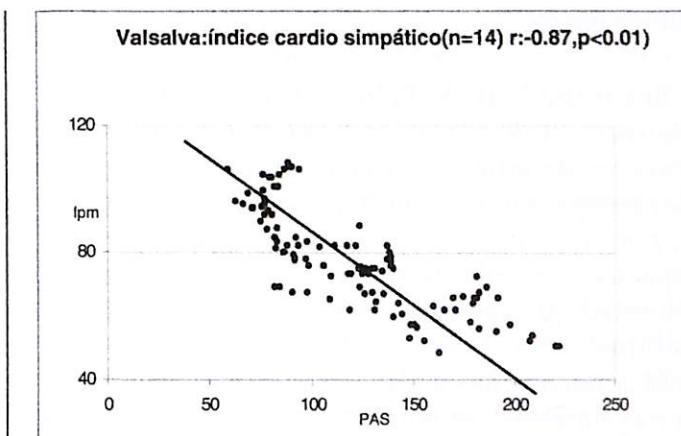
(p<0,001), la PAD en 18,46 ± 2,80(p<0,001) y la PAM de 21,07 ± 3,66 mmHg. (p<0,01) El Pulso aumenta no estadísticamente 1,10 ± 2,39 lpm. Mientras que el VSm² no varía estadísticamente (-4,52 ± 4,16 ml/m²) y gran aumento de las RPTm² en 2,74 ± 0,39 mmHg/ml/m².(p<0,001) (Tabla 3, Figuras1-4).

En general se aprecia en la fase II_E(F.II_E): Aparece una disminución progresiva del volumen sistólico, paralelo a la disminución de la presión sistólica que alcanza su máximo descenso al final de esta fase cuando aparece el fenómeno de escape a los 10,04 ± 0,59 seg. basal vs F.II_E :con un descenso VSm2 de -19,95 ± 5,67 ml,(p<0,05) y una disminución de PA :- 25,86 ± 5,19 / 8,72 ± 3,42 mmHg,(p<0,001) y de PAM 14,44 ± 3,45(p<0,01), aumento del pulso de 9,36 ± 2,70 lpm (<0,05) y un aumento de las resistencias periféricas totales no significativo de 0,09 ± 0,20 (Tabla 3, Figuras1-4).

En general se aprecia en la fase II_L: se inicia a los 10,04 ± 0,59 con el cese del descenso del a presión arterial, es decir el fenómeno de «escape». En el caso de hipotensión ortostática(fallo autonómico, Parkinson, atrofia sistémica múltiple) no se aprecia el fenómeno de escape y la pre sión arterial remonta solo al cese de la maniobra de Valsalva inicio F.III.(18) (Figura 1).

Fase III: no tiene una relevancia especial Tabla 3, Figuras 1-7-8-9-10). Es una fase intermedia de ajuste de presión arterial que se finaliza a los 19,96 ± 0,55seg. En esta fase observamos una remontada de la presión arterial de la F.II_E a valores similares a los de la basal PAS 8,26 ± 4,11 mayor de PAD 6,62 ± 2,55 y PAM 7,16 ± 2,67 mmHg. Conseguido por el aumento del pulso 13,97 ± 2,81 lpm.(p<0,05) No incrementa significativamente de las RPTm2 :0,09±0,14. El VSm² es similar con una diferencia de 2,45± 2,43 ml/m².

Fase IV: esta marcado por el cese de la presión positiva torácica y la liberación del colapso venoso, llegando mas sangre al corazón. Aparece a los 23,68 ± 1,50 seg., como consecuencia, se aprecia un brusco aumento del VS igualando a la basal con VSm2 en 6,90 ± 3,70 ml/m² La presión arterial sufre un incremento mayor que la basal, de PAS 33,25 ± 6,62(p<0,001), PAD 9,50 ± 7,17(p<0,001) y PAM 17,42 ± 5,59 (p<0,01). El pulso es similar a basal con un incremento de



1,24 ± 2,64 lpm y similares RPTm² que aumenta 0,01 ± 0,09 (Tabla 3, Figuras1-4).

Índice cardio simpático de la maniobras de Valsalva

Se analiza durante la fase II_E: la recta de re gresión entre la caída de la presión arterial y el aumento del pulso (Figura 5), según la técnica descrita (19).

El estudio del índice cardio simpático en los 14 casos estudiados nos dan una cifra media de r= -0,87 + 0,04 lpm/mmHg.(p<0,01) (Figura 5).

Estudio comparativo text postural VS Valsalva

En el máximo descenso de PA vs basal. Los tiempos de son menores 6,22 ± 0,61 vs 10,04 ± 0,62 seg. (p<0,001). Los valores son similares en el cambio de PAS: 33,39 ± 6,45 vs 25,86 ± 5,39 mmHg, PAD: 15,95 ± 3,83 vs 8,72 ± 3,56 mmHg, VSm²: 16,46 ± 2,82 vs 14,58 ± 3,06 ml/m², RPTm²: -0,33 ± 0,16 vs 0,04 ± 0,13 mmHg/ml/m² no difieren estadísticamente.

Comparando fase OE con F.III el tiempo de recuperación de la presión arterial a las cifras basales es de 15,25 ± 1,04vs 19,96 ± 0,57 (p<0,001). La recuperación de la PA en el test postural en la fase OE se hace a expensas de la RPTm2 2,78 ± 0,22 vs F.III 0,86 ± 0,14 mmHg/ml/m²(p<0,001). Son simi lares el aumento de MAP:85,17 ± 4,33 vs 95,59 ± 4,58 mmHg, pulso:86,47 ± 3,97 vs 82,49 lpm y VSm²:32,84 ± 2,69 vs 40,92 ± 4,50 ml/m² (fig.3-4)

DISCUSIÓN:

Las maniobras de Valsalva y postural son ampliamente utilizadas para el estudio etiológico del síncope. Sin embargo no hay técnicas normalizadas que permitan comparar resultados. Y además la gran mayoría son de carácter invasivo, con la consecuente molestia para el paciente y la imposibilidad que eso implica para su uso en clínica habitual.

El conocimiento de las cifras basales de las distintas variables es fundamental para el ulterior estudio de las diferentes patologías q producen síncope y su influencia en la hemodinámica del paciente.

Para el estudio del IAS y de la SBR en otras publicaciones se emplea por separado el análisis de la onda de presión mediante Finapres y el espacio RR mediante ECG(7), es decir, se deben utilizar y correlacionar dos tipos de aparatos diferentes.

En nuestro estudio hemos utilizado solamente el Finapres para calcular ambas variables dado la gran correlación($r=0,96$) que obtenemos entre RR, que se obtiene en ECG, con el intervalo de presión arterial (PP) obtenido con el mismo Finapres. Así que hemos empleado el intervalo PP recalculado en forma de frecuencia cardíaca (con dos decimales).

Hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre la actividad simpática en decúbito y ortostatismo ($r:0,53$, $p<0,01$)(Figura 2) como Kamiya (20).

Los datos obtenidos en nuestro estudio sobre SBR son similares y consistentes con los encontrados en la literatura (21-27).

En cuanto a la medición del VS, la mayoría de los estudios de la literatura utilizan las técnicas de termodilución (17) o eco cardiografía (28)) lo que impide el estudio continuo hemodinámico, dado el rango en que pueden aparecer las alteraciones hemodinámicas en el estudio del síncope, creemos como otros autores (4-5) la necesidad de estudio continuo para valorar cambios de PA, VS, RPT.

La técnica de medida con cardiografía por impedancia tiene la posibilidad de hacer el cálculo a cada latido cardiaco del VS, RPT(4). Otras técnica para el cálculo de VS y RPT indirectamente es por análisis de la onda de presión(5). Se critica en

ocasiones una buena correlación entre la cardiografía con impedancia con otros sistemas de medida (28), aunque últimamente se está empleando esta técnica(15).

La maniobra de Valsalva es de corta duración y difícil de realizar en personas mayores con una fuerza espiratoria limitada, es por lo que creemos necesario el disponer de la alternativa como puede ser el test postural. La combinación de ambos nos aportará más datos y sobre todo que el test postural de 20 minutos de duración es imprescindible para descartar el síncope de origen vaso-vagal.

En las pruebas de estímulo por nitroprusiato o por adrenalina las variaciones de la presión arterial suelen ser valorables a partir de 20 mmHg con lo que sea aprecia la respuesta simpática taquicardizante (6). La maniobra de Valsalva produce un descenso de la presión arterial mayor que la que se produce para estimular los baroreceptores con nitroprusiato. El estudio del índice baroreflejo cardíaco con el test de Valsalva es una buena técnica, no invasiva, rápida que no requiere instrumental especial.

Con el estudio de la F.II_E el índice baroreflejo cardíaco en sanos obtenemos una $r=-0,87$, mientras que en estudios de hipotensión ortostática los valores que presenta son menores de -0,74 (16).

Hemos querido establecer los límites normales en sanos en las diferentes fases de la maniobra de Valsalva y en el test postural, ya que normalmente no se especifican (17-28).

Los tiempos de máximo descenso de la presión arterial con test postural vs Valsalva son diferentes, con ortostatismo sus tiempos son menores $6,22 \pm 0,61$ vs $10,04 \pm 0,62$ seg. ($p<0,001$) y la recuperación de la presión arterial a las cifras basales es de 15,25 vs 19,96 ($p<0,001$). No existen diferencias significativas en la comparación de los dos test en la fase de mayor descenso de la PA en cuanto al descenso de la PAS, PAD, VSm^2 , $RPTm^2$, lo que los equipara en cuanto a intensidad de estímulo. Este tipo de comparación no la hemos encontrado en ningún tipo de trabajo

El estudio de la maniobra de Valsalva en la F.I esta descrito un aumento de VS como responsable del incremento de la PA (17), en nuestro estudio en general lo que existe es un aumento de las

RPT atribuible al aumento de la presión intratorácica sobre el sistema vascular arterial. Los resultados en la F.II_E son similares a los encontrados en otros trabajos (17-28).

Los tiempos de aparición de la F.IV son los que más se alteran en el estudio del síncope (17). Por lo que creemos importante el haber podido establecer estos límites.

Los tiempos de aparición de la fase Omx y OE varían relativamente poco en los sujetos sanos, pero el caso de hipotensión ortostática puede variar más de 20 minutos, es por lo que se aconseja el mantenimiento de ortostatismo de más de 15 minutos para que aparezca la hipotensión ortostática (17).

No existen estudio comparativos hemodinámicos entre el test postural y el de Valsalva. Nosotros en el estudio comparativo test postural vs test Valsalva en la fase de caída máxima de la PA (fase

O vs F.II_E) destacamos la similitud hemodinámica en las variaciones de MAP, VSm^2 y $RPTm^2$. Existe un tiempo mas rápido de aparición de descenso máximo. Así mismo es mas corto el tiempo de recuperación de la PA comparando fase OE vs F.III y además esta recuperación es a expensas de un mayor incremento de las $RPRm^2$.

Como se observa el uso de ambas maniobras tiene su valor e implicación clínica. A pesar de las posibles limitaciones, ambas son maniobras útiles para el estudio fisiopatológico del síncope y además se las puede considerar complementarias.

La facilidad de obtención de datos de forma continua y la comodidad para el paciente hacen que el estudio hemodinámico no invasivo permita un estudio más profundo y amplio de las múltiples variables tanto neurológicas como de mecánica cardiovascular que se ven implicadas en el síncope y otras patologías.

Referencias bibliográficas

1. Foldager N, and Blomquist CG. Human Baroreflexes in Health and Disease. New York: Oxford University Press, 1992:3-299.
2. Macefield VG, Wallin BG, Valbo AB: The discharge behaviour of single vasoconstrictor motor neurones in human muscle nerves. J.Physiol (London) 1994;481:799-809.
3. Grassi G, Murria E.:Evaluation sympathetic activity. J.Hipertension 1999;4:719-734.
4. Novak V, Honos G, Schondorf R. Is the Herat empty at síncope?.J. Auton.Nerv.Syst.1996;60:83-92.
5. Jellema WT, Imholz BPM, Oosting H, Wesseling KH, Lieshout JJ. Estimation of beat-to-beat changes in stroke volume arterial pressure a comparison of two pressure wave analysis techniques during head-up tilt in young healthy men. Clin Auton.Res.1999; 9:185-192.
6. Robertson D, Hollister AS, Biaggioni I: The diagnosis and treatment of baroreflex failure. N Engl J. Med.1993;328: 1449-1455.
7. Elghozi J., Laude D., Janvier F.: Clonidine reduces blood pressure and heart rate oscillations in Hypertensive Patients. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1990; 17; 6:935-940.
- 8) Pagani M., Lombardi F., Guzzetti, Rimoldi O., Furlan P., Pizzinelli P., Sandrone G., Malfatto G., Dell'Orto S., Piccaluga E., Turiel M., Baselli G., Cerutti S., Malliani A.: Power Spectral analysis of Heart Rate
- and Arterial Pressure Variabilities as a Marker of Sympatho-Vagal Interaction in Man and Conscious Dog. Circulation Research. 1986;59:178-193.
9. Omboni S.,Parati G.,Fattola A.,Mutti E.,Di Renzo M.,Castiglioni P., Mancia G.:Spectral and sequence analysis of finger blood pressure variability. Comparison with analysis of intra-arterial recordings.Hypertension. 1993;22:26-33.
10. Abranson Ruth and Albert:Spectral analysis of fetal electrocardiogram. Comp.Biol.Med. 1989;19,6: 409-415.
11. Pagani M.,Pizzinelli P., Mariani P., Lucini D., Di Michele R., Malliani A.: Effects of chronic Cilazapril treatment on cardiovascular control: Spectral Analytical Approach.J.Cardiovasc. Pharmacol; 1992. 19 (S6): S110-S116-(24) 24-Murgo J.P., Westerhof N. Glioma J.P., Altobelli S.: Aortic input impedance in normal man: relationships to pressure wave forms. Circulation. 1980;626:105-116.
12. Pagani M.,Malfatto G., Pierini S. et al.: Spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy. J.Auton. Nerv. Syst. 1988;23:143-145.
13. A.Daffonchio,C. Frazelli, P. Castiglioni, M. Di Renzo,G. Mancia, A. Ferrari:Sympatectomy and cardiovascular spectral components in conscious normotensive rats. Hypertension. 1995;25:1287-1293.

14. Luccini D., Pagani M., Mela G.S., Malliani A.: Sympatetic restraint of baroreflex control of heart period in normotensive and hypertensive subjects. *Clin. Science*. (1994) 86: 547-556.
15. De Maria A.N., Raisinghani A.: Comparative overview of cardiac output measurement methods: has impedance cardiography come of age? *CHF*. 2000, vol 6:7-18, 19-24.
16. Godstein D.S., Pechink S., Holmes C., Eldadah B., Sharabi Y.: Association between supine hypertension and orthostatic hypotension in autonomic failure. *Hypertension*. 2003; 42: 136-142.
17. Jardine D.J., Melton I.C., Crozier I.G., English S., S.I. Bennett, Frampton C.M., Ikram H.: Decrease in cardiac output and muscle sympathetic activity during vasovagal syncope. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 2002, vol 282:H1804-H1809.
18. Goldstein DA, Pechink S., Holmes C., Eldadah B., Sharabi Y.: Association between supine hypertension and orthostatic hypotension in autonomic failure. *Hipertensión*. 2003; 42: 136-142.
19. Godstein DS, Horwitz D, Keiser HR: Comparison of techniques for measuring baroreflex sensitivity in man. *Circulation* 1982; 66:432-439.
20. Kamiya A., Iwase S., Sugiyama Y., Mano T., Sudoh M.: Vasomotor sympathetic nerve activity in men during bed rest. *Aviat Space Environ Med*. 2000, 71:142-149.
21. Watkins LL, Grossman P, Sherwood A. Noninvasive assessment of baroreflex control in borderline hypertension. *Comparison with the phenylephrine method*. *Hypertension*. 1996; 28:238-243.
22. Lucini D, Pagani M, Mela GS et al. Sympathetic restraint of baroreflex control of heart period in normotensive and hypertensive subjects. *Clin Sci (Lond)*. 1994; 86:547-556.
23. Herpin D, Ragot S. Mid- and long-term reproducibility of noninvasive measurements of spontaneous arterial baroreflex sensitivity in healthy volunteers. *Am J Hypertens*. 1997; 10:790-797.
24. JE, Tahvanainen KU, Mantysaari MJ et al. Simultaneous invasive and noninvasive evaluations of baroreflex sensitivity with bolus phenylephrine technique. *Am Heart J*. 1995; 130:296-301.
25. Kim SY, Euler DE. Baroreflex sensitivity assessed by complex demodulation of cardiovascular variability. *Hypertension*. 1997; 29:1119-1125.
26. Tank J, Baevski RM, Fender A et al. Reference values of indices of spontaneous baroreceptor reflex sensitivity. *Am J Hypertens*. 2000; 13:268-275.
27. López-Vidriero Abelló E, López-Vidriero Tejedor E, Rodríguez FJ. Alteración de la sensibilidad de los barorreceptores en diferentes etiologías de la hipertensión. *Revista Clínica Española*. 2000; 200:125.
28. Yamanouchi Y, Jaalouk S., Shehadeh A.A., Jaeger F., Goren H., Fouad-Tarazi F.M. Changes in left ventricular volume during head-up tilt in patients with vasovagal syncope: an echocardiographic study. *Am Heart J*. 1996; 131:73-80.

BASADO EN UNA MUESTRA REALIZADA A 1.400 NIÑOS NACIDOS HACE 2 AÑOS
A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Un estudio del Hospital Severo Ochoa revela que un 26% de los recién nacidos tiene predisposición a ser celíaco

El 26% de los recién nacidos tiene predisposición a padecer enfermedad celíaca, según un estudio efectuado por el Hospital Severo Ochoa basado en una muestra realizada a 1.400 niños nacidos aproximadamente hace 2 años. Para realizar este trabajo, el equipo responsable del estudio tomó muestras de cordón umbilical de los recién nacidos con el fin de detectar si tenían predisposición de padecer esta enfermedad.

Así, se podrá detectar precozmente la enfermedad y minimizar en lo posible los síntomas. De un total de 1400 nacimientos analizados se han encontrado,

aproximadamente, 400 niños con esta predisposición, un 26% de la muestra.

Sobre estos niños el hospital está trabajando ahora para comprobar el desarrollo de la enfermedad y tomar cuanto antes las medidas terapéuticas necesarias. Actualmente la normalización de las personas celíacas pasa por la supresión del gluten de la dieta. Una intervención temprana logrará un intestino normal pese a que el paciente deberá seguir las medidas dietéticas impuestas durante toda su vida.

Una vez detectada la predisposición genética de los niños y recuperados los casos, se está llevando a cabo



Equipo del Hospital Severo Ochoa: Carmen Hernando de Larramendi, Jefe de Análisis Clínicos; Sonia Fernández y Mª Luz Cilleruelo, Facultativos del Servicio de Pediatría y Juana Jiménez, Analista Clínica.

la determinación de anticuerpos de la enfermedad celíaca (anticuerpos antitransglutaminasa) por medio de un test rápido. A los niños con un test positivo se les realiza analítica completa y serología de enfermedad celíaca en sangre venosa.

Con todo ello se pretende detectar precozmente la enfermedad, para imponer un tratamiento, y conocer la evolución de los niños con serología positiva que tienen, la mayoría de ellos, síntomas escasos o atípicos.

El equipo responsable del estudio está formado por las Dras. M^a Luz Cilleruelo y Sonia Fernández, del servicio de Pediatría, y Juana Jiménez, especialista en Análisis Clínicos. El trabajo se ha realizado en el Laboratorio dirigido por la Dra. Carmen Hernando de Larramendi, y con la financiación de dos Becas de la FUNDACIÓN MAPFRE.

Los primeros síntomas aparecen a los 2 ó 3 años de edad

La novedad de esta detección precoz radica en el hecho de que el estudio se inició hace dos años tomando muestras de cordón umbilical teniendo como planteamiento la base genética de la enfermedad. Con los datos obtenidos y la observación de los niños, la detección de la enfermedad se realiza prácticamente en el momento de su aparición ya que los primeros síntomas debutan a los 2-3 años de edad. «Pretendemos, asegura la Dra. Cilleruelo, tratar cuanto antes a los niños con síntomas y, por otra parte, conocer la evolución de aquellos casos con predisposición genética, pero asintomáticos».

El tratamiento de la enfermedad celíaca consiste en medidas dietéticas que consiguen recuperar al

paciente, sobre todo si se trata de niños de muy corta edad. A veces en los adultos no se consigue una recuperación suprimiendo el gluten de la dieta, en cambio los niños se recuperan totalmente y se consigue que tengan un intestino completamente normal. Cuanto más precoz es el tratamiento se tienen menos complicaciones a largo plazo. Además, la implantación de una dieta es mucho más sencilla cuando se trata de niños.

La celiaquía es una enfermedad que se caracteriza por la inflamación y atrofia de la mucosa del intestino delgado, debido a una intolerancia al gluten, proteína existente en los cereales. El cuadro clínico es muy variable existiendo casos graves con diarrea y malnutrición y otros con síntomas como falta de apetito y anemia ferropénica.

Muchos especialistas creen que estamos ante un iceberg del que sólo conocemos la punta ya que pasan desapercibidos muchos enfermos. El Hospital Severo Ochoa lleva trabajando en torno a la detección de la enfermedad celíaca desde hace varios años. En el año 2000 se inició un estudio de detección de enfermedad celíaca en población escolar con el fin de descubrir realmente la incidencia de la misma en su área sanitaria. Este estudio se realizó sobre una población escolar de niños de 10 a 12 años en las poblaciones de Fuenlabrada y Leganés. Los resultados mostraron que la prevalencia de la enfermedad era de uno cada 220 escolares.

Siguiendo con esta línea de trabajo, el equipo se planteó la conveniencia de adelantar la detección a los 2-3 años, edad en la que debutan los primeros síntomas de la enfermedad.

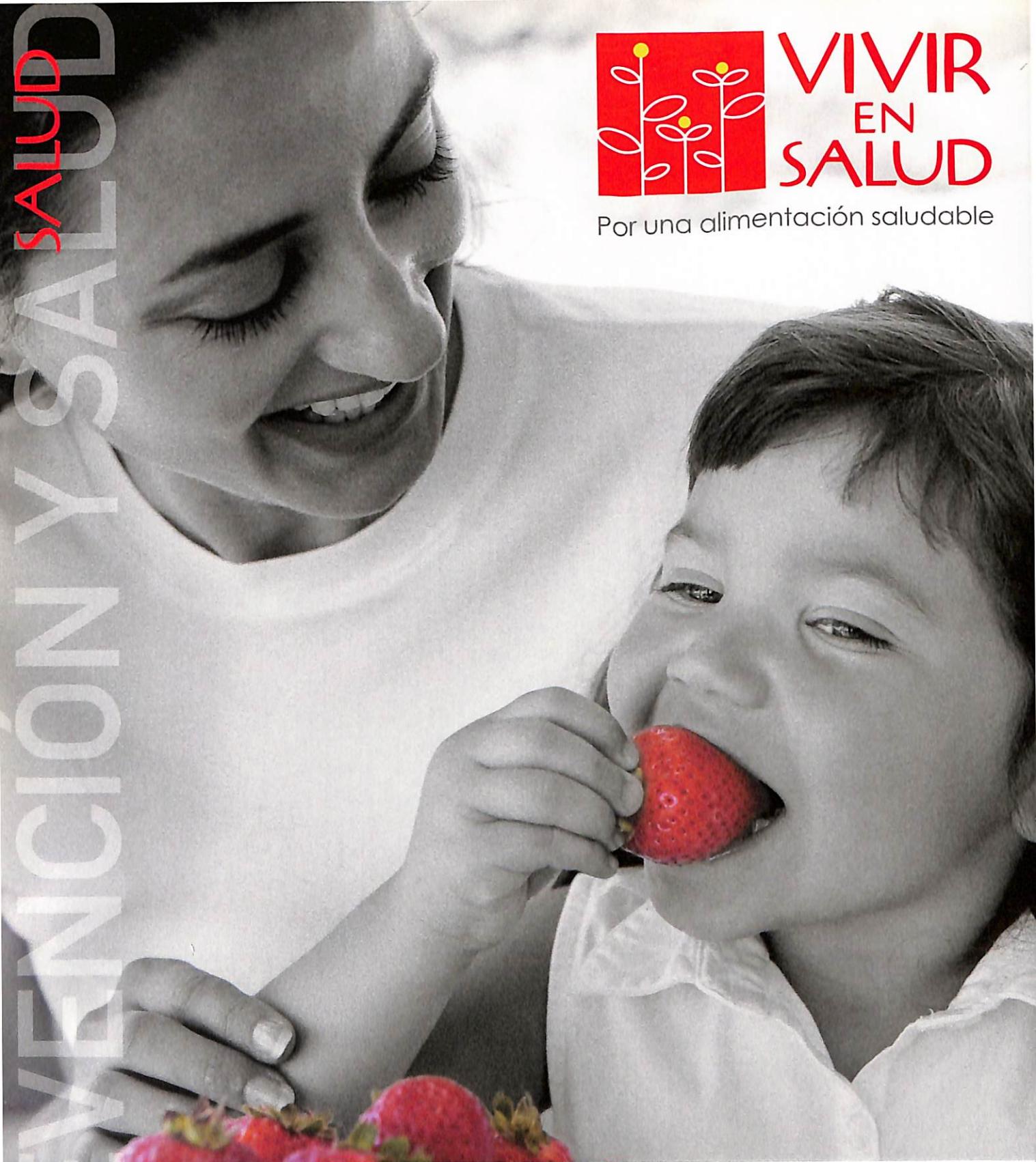
CALENDARIO PROVISIONAL

2007

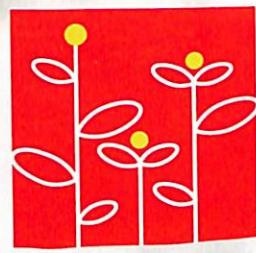
MES	DIAS	ACTIVIDAD	LUGAR
Noviembre	26 nov. al 12 de dic.	I Curso de Formación Continuada: Competencias sobre nutrición y dietética en el manejo de pacientes	Madrid
Noviembre	29	Jornada de Lesión Medular: Retos médicos y sociales en la lesión medular	Madrid
Diciembre	14	Jornada de Mano Traumática	Madrid

2008

MES	DIAS	ACTIVIDAD	LUGAR
Abril	2 y 3	Nuevos horizontes en la Cirugía de la articulación de la rodilla: Rótula y LCA	Gijón
Junio	11, 12 y 13	XXXV Symposium de Traumatología y Ortopedia. Lesiones del deporte	Madrid
Octubre	15 y 16	II Curso Práctico de Cirugía de Hombro	Barcelona



SALUD
INTERVENCIÓN Y SALUD



VIVIR
EN
SALUD

Por una alimentación saludable

ALIMENTACIÓN: LAS CLAVES PARA UNA VIDA SANA

www.vivirensalud.com

91 330 34 22



FUNDACIÓN
MAPFRE

www.fundacionmapfre.com

Entidad colaboradora:



Entidades auspiciadoras:

