

# MAPFRE MEDICINA

## SUMARIO

## SUMMARY

<b>1</b>	<b>EDITORIAL</b>		<b>EDITORIAL</b>	<b>1</b>
<b>3</b>	<b>ARTÍCULOS ORIGINALES</b> Marcadores de hipoxia tumoral en osteosarcomas humanos	<b>J. M. GARCÍA-CASTELLANO R. GORLICK</b>	<b>ORIGINAL ARTICLES</b> Hypoxia markers in human osteosarcomas	<b>3</b>
<b>11</b>	Impacto de una intervención de retroinformación y autoevaluación en la reducción de ingresos inadecuados en servicios de Cirugía General	<b>P. ANTÓN S. PEIRÓ J. M. ARANAZ et al.</b>	Impact of an intervention of feedback and self-assessment in the reduction of inadequate hospital admissions on Surgical Departments	<b>11</b>
<b>20</b>	Papel del óxido nítrico en la respuesta del IGF-I hepático a la inflamación	<b>T. PRIEGO I. IBÁÑEZ DE CÁCERES A. I. MARTÍN et al.</b>	Role of nitric oxide in hepatic IGF-I response to inflammation	<b>20</b>
<b>28</b>	Gestación y trabajo: protocolización de la asistencia a la trabajadora embarazada en Salud Laboral. I. Revisión de los fundamentos legales y técnicos relativos a los agentes de riesgo para la reproducción humana	<b>J. BASCUAS HERNÁNDEZ V. ALCALDE LAPIEDRA A. RODRIGO DE FRANCIA et al.</b>	Pregnancy and work: occupational health procedure for pregnant women at work. I. Review of legal framework and technical knowledge related to risk agents for human reproduction	<b>28</b>
<b>44</b>	Infiltrados linfocitarios de células NK y apoptosis en tumores cerebrales metastásicos	<b>J. VAQUERO M. ZURITA C. AGUAYO et al.</b>	Lymphocytary infiltrates of NK-cells and apoptosis in metastatic brain tumors	<b>44</b>
<b>49</b>	Fenotipo acetilador y su relación con la toxicidad hepática de la isoniazida	<b>M. R. ZAYED A. VELASCO F. PASTRANA et al.</b>	Acetylator phenotype and relationship with hepatotoxicity of isoniazid	<b>49</b>



## FUNDACION MAPFRE MEDICINA

## SUMARIO

(continuación)

**53** Efecto del selenio en dieta sobre la neurotoxicidad inducida por MDMA («éxtasis») en cerebro de ratón

**M. I. COLADO MEGÍA  
V. SÁNCHEZ SÁNCHEZ  
J. CAMARERO JIMÉNEZ  
et al.**

Effect of dietary selenium on MDMA («ecstasy»)-induced neurotoxicity in brain mouse **53**

**63** Sensibilidad y alergia al látex en un Servicio de Dermatología Laboral

**R. DE LA CERDA  
M. ASBATI  
R. VALKS  
et al.**

Sensitization and allergy from latex in a Department of Occupational Dermatology **63**

**70 LITERATURA MÉDICA**

**MEDICAL LITERATURE 70**

**72 NOTICIAS**

**NEWS 72**

## SUMMARY

(continued)

# MAPFRE MEDICINA

## ÓRGANO DE EXPRESIÓN DE LA FUNDACIÓN MAPFRE MEDICINA

**Editor:** José Luis Cabello Flores  
**Director Científico:** Pedro Guillén García  
**Director Técnico:** Francisco de la Gala Sánchez

### Comité de Redacción:

Javier Alonso Santos  
José M.<sup>a</sup> Antón García  
Ricardo Cámara Anguita  
Javier Coba Sotés  
Vicente Concejero López  
Antonio Delgado Lacosta  
Fernando García de Lucas  
Pedro García Méndez  
José Manuel Gómez López  
Carlos Hernando de Larramendi  
Carmen Hernando de Larramendi

Francisco Huesa Jiménez  
Juan José Jorge Gómez  
Felipe López Oliva  
José M.<sup>a</sup> López Puerta  
José M.<sup>a</sup> Madrigal Royo  
Mariano Malillos Pérez  
Joaquín Martínez Ibáñez  
Manuel Miranda Mayordomo  
Ángel Ruano Hernández  
Montserrat Valls Cabrero

### Consejo Asesor:

Alfred O. Bonati (Florida)  
César Borobia Fernández (Madrid)  
René Cailliet (Santa Mónica)  
Luis Conde-Salazar Gómez (Madrid)  
Jacinto Corbella Corbella (Barcelona)  
Diego Dámaso López (Madrid)  
José Ramón de Juanes Pardo (Madrid)  
Manuel de Oya Otero (Madrid)  
Henry Dejour (Lyon)  
Hipólito Durán Sacristán (Madrid)  
Antonio del Río Prego (Madrid)  
Andrew A. Fischer (Nueva York)  
Alberto Gimeno Alava (Madrid)  
José Luis López-Sendón (Madrid)  
Fernando Martín Martín (Madrid)  
María Pilar Martínez Gutiérrez (Madrid)  
José Mendoza Sarmiento (Toledo)  
José Luis Miranda Mayordomo (Madrid)

Louis Miró (Nimes)  
Vicente Moya Pueyo (Madrid)  
Roberto Pastrana Pérez-Canales (Madrid)  
Lars Peterson (Göteborg)  
Juan Plaja Masip (Barcelona)  
Luis Miguel Ruilope Urioste (Madrid)  
Ulises Ruiz Ferrándiz (Madrid)  
Carlos Sáenz de la Calzada y Campo (Madrid)  
Julián Sanz Esponera (Madrid)  
Salomón Schächter (Buenos Aires)  
José María Segovia de Arana (Madrid)  
Juan Tamargo Menéndez (Madrid)  
Juan A. Traver Aguilar (Madrid)  
Eliseo Vaño Carruana (Madrid)  
José Delfín Villalaín Blanco (Valencia)  
Enrique Villanueva (Granada)  
George W. Wood (Memphis)

**Secretaría de Redacción:**  
Carmen Amado Castela

Los originales o correspondencia deben ser enviados a la siguiente dirección:  
FUNDACIÓN MAPFRE MEDICINA  
Ctra. de Pozuelo a Majadahonda, s/n. MAJADAHONDA - 28220 MADRID  
Tel.: (91) 626 57 04 - 626 58 52 - 626 55 00 - Fax: 626 58 25 - 639 26 07  
e-mail: infofmm@mapfremedicina.es

ISSN: 1130-5665

MAMEE6 15(1) 1-78 (2004)

 **FUNDACION MAPFRE MEDICINA**

**Edita:** EDITORIAL MAPFRE, S.A. - Paseo de Recoletos, 25 - 28004 MADRID  
**Imprime:** GRÁFICAS MONTERREINA, S.A.  
**Fotocomposición:** NUAN

  
APP  
ASOCIACIÓN  
DE PRENSA  
PROFESIONAL

  
FIPP  
MIEMBRO DE LA FEDERACIÓN  
INTERNACIONAL DE LA  
PRENSA PERIÓDICA

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 Medicina 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.

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



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



# FUNDACION MAPFRE MEDICINA

<http://www.mapfremedicina.es>



**INFORMACION**



**BECAS**



**PUBLICACIONES**



**AGENDA**



**DISCAPACIDAD**



**COLABORACION**

Ctra. de Pozuelo a Majadahonda, s/n  
28220 Majadahonda (Madrid)  
ESPAÑA

Teléfonos: (+34) 91 626 57 04  
(+34) 91 626 58 52  
Fax: (+34) 91 626 58 25

Correo electrónico:  
[infofmm@mapfremedicina.es](mailto:infofmm@mapfremedicina.es)

El término de enfermedad social engloba a todas aquellas entidades que por su incidencia en la población general, secuelas, gasto sanitario y calidad de vida suponen un problema para la sanidad de un país. En las sociedades desarrolladas la obesidad y las enfermedades coincidentes con ella, como la diabetes, están incluidas en este concepto.

La obesidad humana tiene un componente hereditario aunque los genes y cómo y por qué mecanismos se produce, no están aún suficientemente demostrados. En diversos trabajos se ha podido comprobar que el índice de masa corporal está más ligado a los padres biológicos que a los factores ambientales. Otros investigadores afirman que el componente genético justifica entre el 25% y el 40% de la susceptibilidad en la mayoría de las poblaciones. Estadísticamente, la obesidad afecta a un tercio de los habitantes de los países desarrollados, aumentando cada vez más su incidencia sobre todo en aquellos que se han incorporado recientemente a este grupo. Los cambios de los hábitos dietéticos están muy ligados a este último fenómeno. Dietas abundantes en grasas y pobres en hidratos de carbono con disminución de la fibra y actividad física reducida son los responsables de estas cifras preocupantes. Las autoridades sanitarias de los países han dado la voz de alarma y pretenden concienciar a los habitantes de los riesgos que afrontan como consecuencia del cambio en los hábitos dietéticos. Las células adiposas no varían en cantidad sino en calidad. Por ello, la obesidad infantil es un problema sanitario de primer orden.

La obesidad no obedece a un proceso monogénico. Los determinados genes de la obesidad se encuentran entre aquéllos que causan resistencia a la insulina en el músculo esquelético o impiden el control homeostático de la masa adiposa. Así, favorecerían la acumulación de grasas y la supervivencia en situaciones de déficit alimentario. Sería el genotipo economizador en el sentir de Neel, que favorecería el depósito de grasa en épocas de abundancia en poblaciones caracterizadas por períodos de hambruna. Sin embargo, no se ha demostrado que las personas que tienen este gen sobrevivan más en épocas de privación de alimentos

Si la resistencia a la insulina es una característica de la obesidad, que ligada a una anomalía precoz de las células beta del páncreas, abocan en una diabetes mellitus no insulín dependiente —DMNID—, se explicaría la dualidad obesidad/diabetes tan presentes en la clínica. Junto a estos factores, el aporte excesivo de calorías, junto a una baja actividad física, condicionan incluso de forma independiente, la DMNID. El ejercicio mejoraría la sensibilidad a la insulina. La distribución corporal de la obesidad también influye en la aparición de la diabetes. La obesidad troncular predispone de forma especial a la DMNID. De igual modo, el aumento del índice corporal es fundamental para la aparición de la misma. Así el riesgo es 40 veces mayor en las personas que tienen un índice de masa corporal superior a 35 kg/m<sup>2</sup> que en las que el índice de masa corporal es de 23 kg/m<sup>2</sup>.

Los pacientes obesos y que padecen DMNID ingresan entre cinco y seis veces más en los hospitales por procesos agudos, que las personas que no presentan estos diagnósticos, ocupando entre cinco y seis veces más camas hospitalarias, sobre todo en niños menores de 15 años. El coste para los países por ingresos hospitalarios, atención sanitaria en centros de salud, medicación, etc., junto a disminución en la productividad, absentismo y muerte prematura, indemnizaciones por incapacidades, es difícilmente cuantificable. Los estudios sobre el coste/efectividad de los programas de detección, educación y tratamiento de la obesidad como causa, entre otros procesos patológicos de la DMNID, deben contribuir a que todos los sanitarios nos concienciamos del problema, so-

bre todo si pensamos que la mitad de las complicaciones clínicas aparecen antes de que se diagnostique la DMNID y que el pronóstico desfavorable de las mismas mejora con el conocimiento de la enfermedad causal y su prevención.

Particular trascendencia tiene la educación de la población en los hábitos alimentarios. Si está demostrado que la dieta rica en grasas, pobre en fibra e hidratos de carbono junto a una vida sedentaria son las causas exógenas que contribuyen a la obesidad, está claro que son puntos en los que se debe incidir para prevenirla. La restricción de la grasa saturada a cifras inferiores al 10% del aporte energético diario son factores fundamentales en las dietas adecuadas. El adelgazamiento reduce los factores de riesgo cardiovascular, aterogénesis y prolonga la esperanza y calidad de vida de los pacientes con DMNID.

El abandono de la vida sedentaria, con el ejercicio físico de forma regular, andar al menos una hora al día junto a la dieta, favorece el adelgazamiento, facilitando la pérdida de grasa y aumenta, además, el tejido muscular. El objetivo final debe ser un IMC de 25 kg/m<sup>2</sup>. Toda dieta debe basarse en una restricción de unas 500 Kcl diarias para procurar una pérdida de 0,5 kg por semana. Las dietas deben tener en cuenta las preferencias, hábitos, educación y hábitat en que desarrolla su actividad. El tabaco debe desaconsejarse en todo paciente diabético.

Si conocemos las consecuencias derivadas de la asociación obesidad/DMNID, sabemos su etiología, factores predisponentes y las complicaciones sanitarias y económicas, es indudable que los sanitarios debemos contribuir, desde nuestras responsabilidades en salud pública, a que ésta, como otras enfermedades sociales, dejen de ser una fuente en morbimortalidad en los países del primer mundo. Sin una estrecha colaboración entre autoridades y sanitarios, esto no será posible. Rogamos para que esta unión sea posible y podamos ver los resultados en los próximos años.

## Marcadores de hipoxia tumoral en osteosarcomas humanos

### *Hypoxia markers in human osteosarcomas*

<sup>1</sup> Instituto Canario de Investigación del Cáncer (I.C.I.C)  
Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín  
Las Palmas de Gran Canaria

García-Castellano J. M.<sup>1</sup>  
Gorlick R.<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Departamento de Pediatría  
Memorial Sloan-Kettering Cancer Center  
Nueva York

#### RESUMEN

El propósito de este trabajo fue investigar la expresión de HIF-1 $\alpha$  y VEGF, la neovascularización y la proliferación celular en osteosarcomas humanos. La expresión de HIF-1 $\alpha$  y VEGF se estudió mediante inmunohistoquímica. La neovascularización se evaluó mediante inmunotinción contra el factor VIII, y la proliferación celular se determinó mediante el estudio de Ki-67. Se examinó la asociación estadística entre estos parámetros y las características clínicas de los pacientes. HIF-1 $\alpha$  fue positivo en el 35% de los casos, correlacionándose con las metástasis. VEGF se detectó en el 69% de los casos, asociándose con el género femenino y con la malignidad tumoral. No se observó asociación entre los datos clínicos y la proliferación celular. En conclusión, este manuscrito muestra la primera descripción de HIF-1 $\alpha$  en osteosarcoma, asociándose con la enfermedad metastásica; también se halló una asociación entre la expresión de VEGF con el sexo femenino; y con la malignidad tumoral.

**Palabras clave:** HIF-1 $\alpha$ , VEGF, factor VIII, Ki 67, osteosarcoma.

García-Castellano J M, Gorlick R  
Marcadores de hipoxia tumoral en osteosarcomas humanos  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 3-10

#### Correspondencia:

J. M. García Castellano  
Unidad de Investigación  
Hospital de G. C. Dr. Negrín  
35020 Las Palmas de G. C.  
E-mail: jmgc\_61@yahoo.com

#### ABSTRACT

The aim of this work was to investigate the frequency of HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression, the neovascularization and cell proliferation in human osteosarcoma. Expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF were assessed by immunohistochemistry. Neovascularization was evaluated by immunostaining against factor VIII, and cell proliferation was determined by immunohistochemistry against Ki-67. Statistical association between these parameters and clinical features was examined. HIF-1 $\alpha$  staining was positive in 35% of patients, being clinically correlated with metastasis. VEGF expression was detected in 69% of cases, and was significantly associated with gender. VEGF was also associated with histological tumor grade. No association was found between cell proliferation and clinical data. In conclusion, this manuscript shows the first description of HIF-1 $\alpha$  expression in osteosarcomas, which was associated with the metastatic disease; it is also shown an association between VEGF protein expression with female gender; and a trend towards an association between VEGF expression and tumor grade.

**Key words:** HIF-1 $\alpha$ , VEGF, factor VIII, Ki 67, osteosarcoma.

García-Castellano J M, Gorlick R  
Hypoxia markers in human osteosarcomas  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 3-10

#### Fecha de recepción: 11 de marzo de 2003

Este trabajo fue subvencionado parcialmente por el National Cancer Institute, por la Fundación Yurman Limb Preservation y por la Ayuda a la Investigación de la Fundación MAPFRE Medicina (convocatoria 2000-2001).

## INTRODUCCIÓN

A pesar de la hipervascularización de los tumores sólidos, las células neoplásicas crecen bajo condiciones de hipoxia, debido parcialmente al desequilibrio entre la tasa de proliferación celular tumoral y la neoformación endotelial, y parcialmente porque muchos de los nuevos vasos no son funcionales (1, 2). Este ambiente hipóxico de los tumores sólidos induce una cascada de acontecimientos que generan un fenotipo más agresivo (3), caracterizado por: 1) radio- y quimio-resistencia (4, 5); 2) selección de células resistentes a apoptosis (6, 7), y 3) incremento en la capacidad de las células tumorales para metastatizar (8).

Los eventos moleculares que acontecen en la hipoxia tumoral son mediados parcialmente por el factor inducido por hipoxia (*hipoxia inducible factor-1 $\alpha$* , HIF-1 $\alpha$ ), factor de transcripción cuya expresión está aumentada en condiciones de hipoxia. Su sobreexpresión ha sido detectada en la gran mayoría de tumores de diferente estirpe histológica, no observándose expresión en tejidos normales o en tumores benignos. Por ejemplo, en el cáncer de mama menos de un tercio de los tumores primarios y más de dos tercios de las metástasis expresan HIF-1 $\alpha$ .

La angiogénesis, proceso esencial requerido para el crecimiento y metástasis de los tumores sólidos, es regulado parcialmente por la vía de HIF-1 $\alpha$  a través de la inducción del factor de crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor*, VEGF). VEGF induce proliferación celular endotelial e incrementa la permeabilidad vascular endotelial (9, 10). Su expresión está aumentada en numerosas líneas celulares tumorales así como en tejidos tumorales primarios de cáncer de mama, pulmón, ovario, hígado y adenocarcinoma de colon, así como en neuroblastomas y osteosarcomas cuando son comparados con el tejido normal (11-13). Ha sido demostrado una relación entre la neovascularización en el tumor primario y el riesgo de metástasis (14-21). Además, se ha observado que el grado de la angiogénesis tumoral es inversamente proporcional a la supervivencia (22).

En diferentes tipos tumorales se ha observado que la hipoxia (23-25) y la tasa de proliferación (26-28) pueden ser importantes determinantes de la evolución clínica de los pacientes. Además, la proliferación celular, evaluada mediante el índice de marcaje con Ki-67, se correlaciona con la sobreexpresión de HIF-1 $\alpha$  en algunos tumores humanos (29).

En los osteosarcomas la neovascularización y la expresión de VEGF han sido estudiados previamente (12, 30), pero la relación de estos parámetros con la proliferación celular y la expresión de HIF-1 $\alpha$  no han sido descritos antes. El propósito de este trabajo ha sido el de investigar la frecuencia de expresión de HIF-1 $\alpha$ , VEGF y el índice de neovascularización y proliferación celular en pacientes con osteosarcoma y determinar si estos parámetros se correlacionan con la evolución clínica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Pacientes

Muestras procedentes de 51 osteosarcomas fueron obtenidos a partir de pacientes intervenidos en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (Nueva York). Todos los pacientes o sus tutores dieron consentimiento informado para la participación en el estudio, el cual fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital. Los pacientes fueron tratados con quimioterapia neoadyuvante y extirpación del tumor. La eficacia terapéutica fue evaluada histológicamente mediante el sistema de gradación de Huvos, describiéndose cuatro grados: **grado I**, poca o ninguna evidencia de necrosis; **grado II**, presencia de necrosis tumoral entre el 50-90%; **grado III**, necrosis entre el 90-99%; y, finalmente, **grado IV**, 100% de necrosis (31). Los especímenes tumorales fueron revisados por un patólogo para asegurar que había menos de 30% de contaminación con células normales estromales. En secciones de 6  $\mu$ m se estudió la expresión proteica de HIF-1 $\alpha$  y VEGF, se evaluó la neovascularización mediante el marcaje del factor VIII (von Willebrand) y la proliferación celular mediante el estudio de la positividad para el marcador Ki-67. El estudio se llevó a cabo mediante técnicas inmunohistoquímicas mediante ensayo de avidina-biotina-inmunoperoxidasa usando cortes congelados incluidos en OTC. Las secciones fueron incubadas con anticuerpos primarios contra HIF-1 $\alpha$  (dilución 1:100, Novus Biologicals, Littleton, CO), VEGF (dilución 1:200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA), factor VIII (dilución 1:100, NeoMarkers, Fremont, CA) y Ki-67 (dilución 1:100, Immunotech, Berkeley, CA). Las secciones fueron incubadas con anticuerpos secundarios biotinilados, seguido de la avidina-biotina-peroxidasa. La diaminobencidina sirvió como cromógeno y la hematoxilina como contratinción nuclear. La intensidad de la tinción fue valorada como: (-) negati-

va; (+1) positiva; (+2) muy positiva de forma ciega respecto a la identidad del paciente y a la información clínica. La vascularización fue evaluada en tres áreas diferentes del tumor de forma aleatoria contando los vasos en áreas de 200x (objetivo 20x y ocular 10x, 0,74 mm<sup>2</sup> por campo), obteniéndose la media de las tres mediciones. La actividad proliferativa celular fue calculada como el porcentaje de células positivas para el antígeno de proliferación celular Ki-67 respecto al número total de células contadas en un campo de 200x. Fueron contadas al menos 500 células por muestra. La asociación estadística entre la expresión proteica de HIF-1 $\alpha$  y VEGF, la neovascularización y la proliferación celular con los datos clínicos se llevó a cabo aplicando un test de la Chi-cuadrado. Para cada parámetro, la tinción inmunohistoquímica fue comparada con hueso sano como tejido control.

## RESULTADOS

### Datos clínicos

Los datos clínicos quedan reflejados en la Tabla I.

TABLA I. Características clínicas de los pacientes con osteosarcoma

<b>Género:</b>	Varón: 24 (47%) Mujer: 27 (53%)
<b>Subtipo histológico:</b>	Osteoblástico: 27 (53%) Condrolástico: 12 (23%) Fibroblástico: 2 (4%) Células gigantes: 1 (2%) Telangiectático: 2 (4%) Mixto: 7 (14%)
<b>Tipo de espécimen:</b>	Primario: 43 (84%) Metastático: 8 (16%)
<b>Localización:</b>	Fémur distal: 24 (47%) Tibia proximal: 9 (18%) Húmero proximal: 5 (10%) Pelvis: 6 (12%) Pie: 1 (2%) Cabeza: 3 (6%) Otros: 3 (6%)
<b>Metástasis al diagnóstico:</b>	Presente: 12 (23%) Ausente: 39 (77%)
<b>Graduación Huvos:</b>	Grado I: 22 (43%) Grado II: 10 (20%) Grado III: 12 (23%) Grado IV: 7 (14%)

### Expresión proteica de HIF-1 $\alpha$

HIF-1 $\alpha$  fue positivo en el 35% de los pacientes, siendo predominantemente nuclear (Figuras 1A y B). Las metástasis estuvieron presente en el 61% de los pacientes HIF-1 $\alpha$  positivos (Chi-cuadrado = 5,46,  $p = 0,019$ ) (Tabla II), siendo el riesgo 4,3 mayor en comparación con los pacientes HIF-1 $\alpha$  negativos. No se observó asociación entre la expresión proteica de HIF-1 $\alpha$  con otros datos.

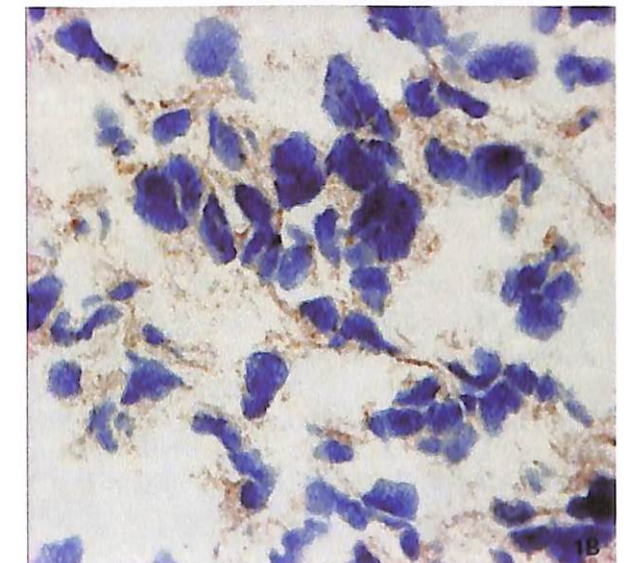


Figura 1. Inmunotinción para HIF-1 $\alpha$ . En el 35% de los pacientes HIF-1 $\alpha$  fue positivo (Figura 1A). La tinción fue predominantemente intranuclear. En el 65% de los casos la inmunotinción fue considerada como negativa (Figura 1B). Aumento 400x.

**TABLA II. Asociación entre HIF-1 $\alpha$  y enfermedad metastática**

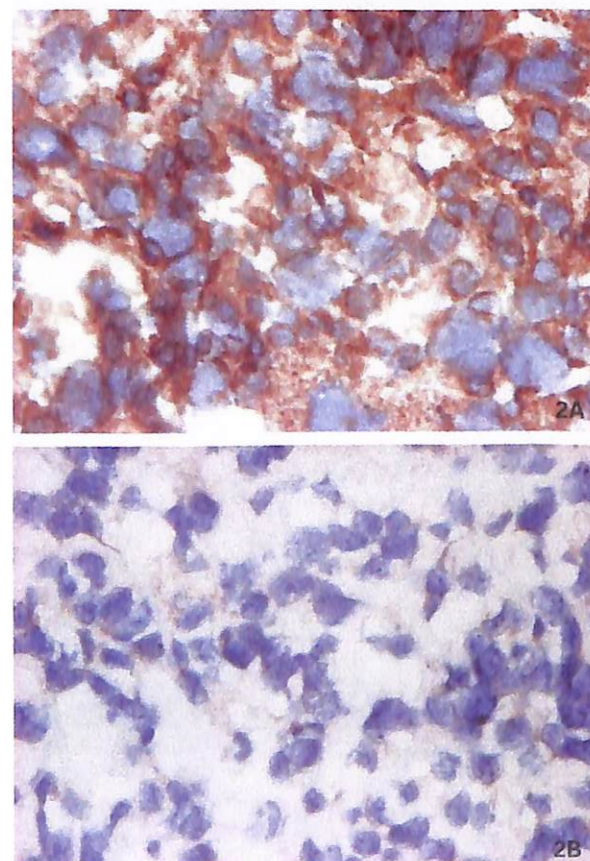
		HIF-1 $\alpha$	
		(+)	(-)
Enfermedad metastática	Sí	11	8
	No	7	22

Chi-cuadrado = 5,46,  $p = 0,019$

Hubo una correlación clínica entre la expresión de HIF-1 $\alpha$  y la enfermedad metastática. En el 61% de los casos HIF-1 $\alpha$  positivo se observaron metástasis, mientras que en el 27% de los casos negativos para HIF-1 $\alpha$  las metástasis estuvieron presentes.

**Expresión proteica de VEGF**

La expresión proteica de VEGF se detectó en el 69% de los casos (Figuras 2A y B), estando aso-



**Figura 2.** Inmunotinción para VEGF. Los casos considerados como positivos para VEGF presentaron tinción citoplasmática en el 69% de los casos (Figura 2A). En el 31% de los casos los pacientes fueron considerados como negativos para la expresión de esta proteína (Figura 2B). Aumento 400x.

ciada con el género (Chi-cuadrado = 9,42,  $p = 0,002$ ). En los varones el 52% mostró expresión para VEGF mientras que en las mujeres fue del 92% de los casos (Tabla III). Aunque no fue estadísticamente significativo, la positividad para VEGF se asoció con el grado histológico del tumor (Chi-cuadrado = 3,03,  $p = 0,082$ ). El 89% de los casos VEGF positivos fueron osteosarcomas de alto grado de malignidad y el 11% fue de bajo grado (Tabla IV). No se observó otra asociación entre la positividad para VEGF y otros datos clínicos.

**Densidad microvascular (DMV)**

El número de vasos por campo osciló entre 3 y 55 ( $16 \pm 13$ ,  $x \pm SD$ ). No se observó asociación estadística entre este dato y los restantes parámetros (Figura 3).

**Proliferación celular**

El número de células por campo positivas para Ki-67 osciló entre 9,5 y 53,5 ( $32 \pm 12$ ,  $x \pm SD$ ).

**TABLA III. Asociación entre VEGF y enfermedad metastática**

		VEGF	
		(+)	(-)
Género	Varón	12	11
	Mujer	23	2

Chi-cuadrado = 9,42,  $p = 0,002$

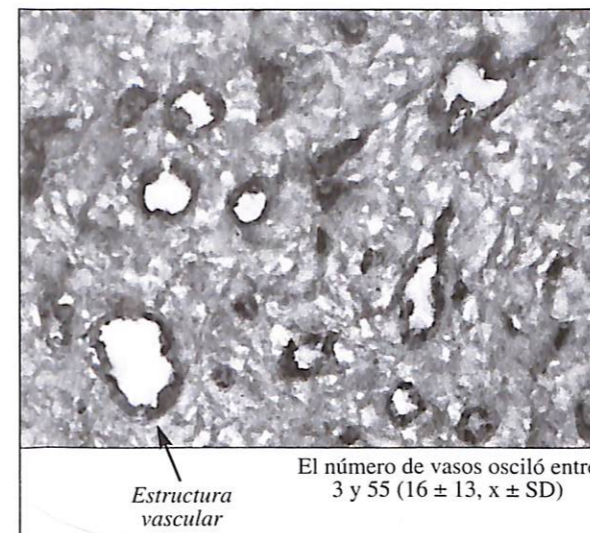
La expresión de VEGF se asoció con el género. En los varones el 52% mostró expresión de VEGF mientras que en las mujeres la positividad ascendió al 92% de los casos.

**TABLA IV. Asociación entre VEGF y grado tumoral**

		VEGF	
		(+)	(-)
Grado	Bajo	4	4
	Alto	31	9

Chi-cuadrado = 3,03,  $p = 0,082$

Se observó una tendencia estadística entre la expresión proteica de VEGF y el grado histológico del tumor. Casi el 89% de los casos VEGF positivo fueron osteosarcomas de alto grado de malignidad, mientras que sólo fue positivo en el 11% de los casos de bajo grado.



**Figura 3.** Inmunotinción para factor VIII (von Willebrand). Anticuerpos dirigidos contra el antígeno endotelial factor VIII permiten marcar el contorno de los vasos en las piezas tumorales. El número de vasos osciló entre 3 y 55 ( $16 \pm 13$ ,  $x \pm SD$ ). Aumento 400x.

Igualmente no se pudo observar asociación entre este parámetro y los datos clínicos.

**DISCUSIÓN**

En los osteosarcomas la supervivencia depende esencialmente de la presencia de metástasis. Al igual que otros tumores sólidos, requieren de la vascularización para el crecimiento del tumor primario y de las metástasis, por lo que la neovangiogénesis es un proceso fundamental. La hipoxia es un factor que regula la angiogénesis y, por tanto, es esencial para el desarrollo de las metástasis. Así, la probabilidad de metástasis es dos veces mayor en los sarcomas de partes blandas cuando la  $pO_2$  es menor a 10 mm Hg, en comparación con los tumores que tienen una concentración mayor (32).

Los tumores sólidos producen ciertos factores de crecimiento con propiedades angiogénicas, induciendo con ello la neovascularización en el tumor (33, 34). Se sabe que estos efectos hipóxicos están mediados por VEGF. En este estudio, la expresión proteica de VEGF fue detectada en dos tercios de los osteosarcomas, estando asociado con el género de los pacientes. No conocemos exactamente el significado de estos resultados, sin embargo, se sabe que en los tejidos clásicos hormono-dependientes, como el endometrio, la transcripción del gen de VEGF está incrementada bajo

la influencia de los estrógenos (35). También se sabe que el efecto de la deprivación estrogénica sobre la masa ósea induce un cuadro de osteoporosis, efecto inducido a través de los receptores de estrógeno descritos en el hueso normal (36); sin embargo, no existen hasta el momento referencias que describan la presencia de estos receptores en muestras de pacientes con osteosarcoma. Actualmente estamos estudiando la relación entre la expresión de VEGF con la actividad estrogénica en el hueso.

Se ha relacionado la supervivencia con la expresión proteica de VEGF. En el cáncer colorectal, los pacientes con sobreexpresión de mRNA de VEGF tienen un peor pronóstico (37). En los osteosarcomas la expresión aumentada de VEGF y la vascularización incrementada están asociadas con un peor pronóstico (30). Sin embargo, en otros tumores la relación entre estos parámetros no ha sido totalmente demostrada. En los adenocarcinomas pancreáticos, ni el conteo de vasos ni la expresión de VEGF pudieron ser predictores de la supervivencia (38). Kawauchi (39) no demostró correlación entre la expresión de VEGF y la DMV o el pronóstico en el sarcoma sinovial. En nuestra serie de pacientes no hemos hallado relación entre la expresión de VEGF y la supervivencia.

La progresión maligna inducida por la hipoxia condiciona la pobre evolución de los tumores sólidos (40). Así, en los tumores de células gigantes del hueso, la sobreexpresión de VEGF se asoció con la conducta biológica de los tumores. En el estadio III estos tumores muestran mayores niveles de VEGF que en los tumores que están en fase I/II (41). En nuestros resultados, aunque no hubo diferencias significativas, se observó una tendencia a la asociación entre la expresión de VEGF con un fenotipo tumoral más agresivo. En los osteosarcomas de alto grado de malignidad el 77,5% de los casos fueron VEGF positivo, mientras que el 22,5% fueron negativos para la expresión de VEGF.

Se ha demostrado una correlación significativa en los osteosarcomas entre la expresión de VEGF y el incremento en la vascularización (30). En 30 osteosarcomas, los transcritos para VEGF fueron detectados en todos los osteosarcomas primarios y en nueve xenotumores, siendo el número de vasos en los tumores VEGF positivos significativamente mayor que en los tumores VEGF negativos (30). En otra serie de 27 osteosarcomas, VEGF fue positivo en el 63% de las muestras. En los casos positivos, la DMV fue significativamente mayor que en los tumores VEGF negativos (12). En nuestros pacientes no hemos observado relación entre la expresión de VEGF y la DMV. De

acuerdo con nuestros resultados, otros autores han encontrado que la expresión de VEGF no siempre se relaciona con el incremento de la neovascularización. Así, en el cáncer de pulmón de células no pequeñas cerca de la mitad de los casos que expresaban VEGF tenían una pobre vascularización, lo cual muestra que la angiogénesis es dependiente de otros factores reguladores positivos y/o negativos (42).

Algunos autores describen una asociación entre la presencia de metástasis y la inmunopositividad para VEGF. Kaya (12) observó que la tasa de metástasis en los pacientes con osteosarcomas VEGF positivos (82,3%) fue significativamente mayor que aquellos casos VEGF negativos (10%). Sin embargo, nosotros no encontramos asociación alguna entre la positividad para VEGF y la presencia de metástasis.

La hipoxia induce la expresión de una serie de genes reguladores del proceso. La inducción de la proteína HIF-1 $\alpha$  parece ser un paso crítico en la respuesta hipóxica y ocurre a través de un aumento en la expresión de su mRNA, de la estabilización proteica, translocación nuclear y aumento de la actividad de sus dominios de activación transcripcional (43). En el estudio de Zhong (29), la mayoría de los tejidos humanos normales no fueron reactivos a la expresión proteica de HIF-1 $\alpha$  (88%). En el caso del cáncer de mama los tumores primarios fueron positivos en el 29% de los casos, siendo positivo en el 69% de las metástasis. En nuestro trabajo se describe por vez primera la expresión de HIF-1 $\alpha$  en osteosarcomas. En nuestra serie de pacientes, la expresión de esta proteína se detectó en un tercio de los casos y estuvo asociada a la presencia de enfermedad metastática. En el 61% de los casos HIF-1 $\alpha$  positivos los pacientes tenían metástasis, y en el 74% de los osteosarcomas HIF-1 $\alpha$  negativos no se observaron metástasis. En nuestros resultados no se observaron otras asociaciones entre la expresión proteica de HIF-1 $\alpha$  y otros datos clínicos o biológicos.

El alto potencial proliferativo de las células tumorales, representado por el índice de marcaje Ki-67 como factor pronóstico, ha dado resultados variables. La positividad para Ki-67 se cree que es uno de los factores de riesgo para la recurrencia de los meningiomas. Algunos autores han hallado que los valores de Ki-67 en las biopsias de los tumores recurrentes fueron mayores que en el caso de los tumores no recurrentes (44). Otros autores han encontrado una evolución menos favorable en los tumores con mayor índice de Ki-67 (44, 45). Por otro lado, este índice de proliferación no se correlacionó con la evolución de los pacientes afectados de carcinoma rectal o de cérvix (46-49). En

sarcomas caninos de partes blandas no se observó relación entre el marcador de hipoxia 2-nitroimidazol y la proliferación celular (50). Igualmente, en carcinomas escamosos humanos de cabeza y cuello no se halló correlación entre la pO<sub>2</sub> (medidas con electrodos Eppendorf) y la tasa de proliferación evaluada *in vivo* mediante iododeoxiuridina (51). En este sentido, en nuestros resultados no hallamos asociación alguna entre la capacidad proliferativa de las células y otros datos clínicos o biológicos.

En conclusión, en este trabajo mostramos la primera descripción de expresión proteica de HIF-1 $\alpha$  en osteosarcomas humanos asociado a la presencia de enfermedad metastática. Igualmente mostramos una fuerte asociación estadística entre la expresión proteica de VEGF con el género femenino. Actualmente estamos desarrollando experimentos que permitan demostrar una asociación entre la expresión de VEGF y la actividad estrogénica en los osteosarcomas. Finalmente, encontramos una tendencia estadística a la asociación entre la positividad para VEGF y el estadio del tumor, lo cual se halla en correspondencia con otros datos aportados por la bibliografía. Estos datos sugieren la existencia de nuevas opciones terapéuticas en el tratamiento del cáncer, tales como la inhibición de la actividad de HIF-1 $\alpha$  y/o factores angiogénicos, que deben ser explorados.

#### BIBLIOGRAFÍA

- PAN K, BALDWIN M, NGUYEN J, GASSET M, SERBAN A, GROTH D, MEHLHORN I, HUANG Z, FLETTERICK R J, COHEN F E, PRUSINER S B. Conversion of  $\beta$ -helices  $\beta$ -sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 10962-10966.
- VAUPEL P, KALLINOWSKI F, OKUNIPELL P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer Res*. 1989; 49: 6449-6465.
- IYER N V, LEUNG S W, SEMENZA G L. The human hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  gene: HIF1A structure and evolutionary conservation. *Genomics*. 1998; 52: 159-165.
- WOUTERS B G, BROWN J M. Cells at intermediate oxygen levels can be more important than the «hypoxic fraction» in determining tumor response to fractionated radiotherapy. *Radiat Res*. 1997; 147: 541-550.
- GRAU C, OVERGAARD J. Effect of etoposide, carmustine, vincristine, 5-fluorouracil, or methotrexate on radiobiologically oxic and hypoxic cells in a C3H mouse mammary carcinoma in situ. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1992; 30: 277-280.
- KOONG A C, DENKO N C, HUDSON K M, SCHINDLER C, SWIERSZ L, KOCH C, EVANS S, IBRAHIM H, LE Q T, TERRIS D J, GIACCIA A J. Candidate genes for the hypoxic tumor phenotype. *Cancer Res*. 2000; 60: 883-887.
- GRAEBER T G, OSMANIAN C, JACKS T, HOUSMAN D E, KOCK C J, LOWE S W, GIACCIA A J. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature*. 1996; 379: 88-91.
- ROFSTAD E K, DANIELSEN T. Hypoxia-induced metastasis of human melanoma cells: involvement of vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis. *Br J Cancer*. 1999; 80: 169-1707.
- KECK P J, HAUSER S D, KRIVI G, SANZO K, WARREN T, FEDER J, CONNOLLY D T. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*. 1989; 246: 1309-1312.
- LEUNG D W, CACHIANES G, KUANG W J, GOEDDEL D V, FERRARA N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989; 246: 1306-1309.
- LEE A H, DUBLIN E A, BOBROW L G, POULSON R. Invasive lobular and invasive ductal carcinoma of the breast show distinct patterns of vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis. *J Pathol*. 1998; 185: 394-401.
- KAYA M, WADA T, AKATSUKA T, KAWAGUCHI S, NAGOYA S, SHINDOH M, HIGASHINO F, MEZAWA F, OKADA F, ISHII S. Vascular endothelial growth factor expression in untreated osteosarcoma is predictive of pulmonary metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res*. 2000; 6: 572-577.
- EGGERT A, IKEGAKI N, KWIATKOWSKI J. High-level expression of angiogenic factors is associated with advanced tumor stage in human neuroblastomas. *Clin Cancer Res*. 2000; 6: 1900-1908.
- GASPARINI G, HARRIS A L. Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: much more than a prognostic tool. *J Clin Oncol*. 1995; 13: 765-782.
- TEICHER B A, HOLDEN S A, ARA G, SOTOMAYOR E A, HUANG Z D, CHEN Y N, BREM H. Potentiation of cytotoxic cancer therapies by TNP-470 alone and with other anti-angiogenic agents. *Int J Cancer*. 1994; 57: 920-925.
- GASPARINI G, WEIDNER N, BEVILAQUA P. Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node-negative breast carcinoma. *J Clin Oncol*. 1994; 12: 454-466.
- WEIDNER N, SEMPLE J P, WELCH W R, FOLKMAN J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast cancer. *N Engl J Med*. 1991; 324: 1-8.
- MACCHIARINI P, FONTANINI G, HARDIN M, SQUARTINI F, ANGELETTI C. Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet*. 1992; 340: 145-146.
- WEIDNER N, CARROLL P R, FLAX J, BLUMENFELD W, FOLKMAN J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol*. 1993; 143: 401-409.
- SMITH-MCCUNE K K, WEIDNER N. Demonstration and characterization of the angiogenic properties of cervical dysplasia. *Cancer Res*. 1994; 54: 800-804.
- TAKAHASHI Y, KITADAI Y, BUCANA CD, CLEARY K R, ELLIS L M. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res*. 1995; 55: 3964-3968.
- FOX S B. Tumor angiogenesis and prognosis. *Histopathology*. 1997; 30: 294-301.
- HOCKEL M, KNOOP C, SCHLENGER K, VORNDRAN B, BAUSSMANN E, MITZE M, KNAPSTEIN P G, VAUPEL P. Intratumoral pO<sub>2</sub> predicts survival in advanced cancer of the uterine cervix. *Radiother Oncol*. 1993; 26: 45-50.
- HOCKEL M, SCHLENGER K, ARAL B, MITZE M, SCHAFFER U, VAUPEL P. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res*. 1996; 56: 4509-4515.
- FYLES A W, MILOSEVIC M, WONG R, KAVANAGH M C, PINTILIE M, SUN A, CHAPMAN W, LEVIN W, MANCHUL L, KEANE T J, HILL R P. Oxygenation predicts radiation response and survival in patients with cervix cancer. *Radiother Oncol*. 1998; 48: 149-156.
- BOLGER B S, SYMONDS R P, STANTON P D, MACLEAN A B, BURNETT R, KELLY P, COOKE T G. Prediction of radiotherapy response of cervical carcinoma through measurement of proliferation rate. *Br J Cancer*. 1996; 74: 1223-1226.
- TSANG R W, FYLES A W, KIRKBRIDE P, LEVIN W, MANCHUL L A, MILOSEVIC M F, RAWLINGS G A, BANERJEE D, PINTILIE M, WILSON G D. Proliferation measurements with flow cytometry Tpot in cancer of the uterine cervix: correlation between two laboratories and preliminary clinical results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995; 32: 1319-1329.
- TSANG R W, WONG C S, FYLES A W, LEVIN W, MANCHUL L A, MILOSEVIC M, CHAPMAN W, LI Y Q, PINTILIE M. Tumour proliferation and apoptosis in human uterine cervix carcinoma II: correlations with clinical outcome. *Radiother Oncol*. 1999; 50: 93-101.
- ZHONG H, DE MARZO A M, LAUGHNER E, LIM M, HILTON D A, ZAGZAG D, BUECHLER P, ISAACS W B, SEMENZA G L, SIMONS J W. Overexpression of HIF-1 $\alpha$  in common human cancers and their metastases. *Cancer Res*. 1999; 59: 5830-5835.
- LEE Y H, TOKUNAGA T, OSHIKA Y, SUTO R, YANAGISAWA K, TOMISAWA M, FUKUDA H, NAKANO H, ABE S, TATEISHI A, KIJIMA H, YAMAZAKI H, TAMAOKI N, UEYAMA Y, NAKAMURA M. Cell-retained isoforms of vascular endothelial growth factor (VEGF) are correlated with poor prognosis in osteosarcoma. *Eur J Cancer*. 1999; 35: 1089-1093.
- WUNDER J A, PAULIAN G, HUVOS A G, HELLER G, MEYERS P A, HEALEY J H. The histological response to chemotherapy as a predictor of the oncological outcome of operative treatment of Ewing sarcoma. *J Bone Jt Surg*. 1998; 80-A: 1020-1033.
- BRIZEL D M, SCULLY S P, HARRELSON J M, LAYFIELD L J, BEAN J M, PROSNITZ L R, DEWHIRST M W. Tumor oxygenation predicts the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer Res*. 1996; 56: 941-943.
- FOLKMAN J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst*. 1990; 82: 4-6.
- BLOOD C H, ZETTER B R. Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochim Biophys Acta*. 1990; 1932: 89-118.

35. MUELLER M D, VIGNE J L, MINCHENKO A, LEBOVIC D I, LEITMAN D C, TAYLOR R N. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 10972-10977.
36. KUSEC V, VIRDI A S, PRINCE R, TRIFFITT J T. Localization of estrogen receptor- $\alpha$  in human and rabbit skeletal tissues. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 83: 2421-2428.
37. ISHIGAMI S-I, ARII S, FURUTAMI M, NIWANO M, HARADA T, MIZUMOTO M, MORI A, ONODERA H, IMAMURA M. Predictive value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastasis and prognosis of human colorectal cancer. *Br J Cancer*. 1998; 78: 1379-1384.
38. ELLIS L M, TAKAHASHI Y, FENOGLIO C J, CLEARY K R, BUCANA C D, EVANS D B. Vessel counts and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic adenocarcinomas. *Eur J Cancer*. 1998; 34: 337-340.
39. KAWAUCHI S, FUKUDA T, TSUNEYOSHI M. Angiogenesis does not correlate with prognosis or expression of vascular endothelial growth factor in synovial sarcomas. *Oncol Rep*. 1999; 6: 959-964.
40. BROWN J M. The hypoxic cell: a target for selective cancer therapy -Eighteen Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Res*. 1999; 59: 5863-5870.
41. ZHENG M H, XU J, ROBBINS P, PAVLOS N, WSOCKI S, KUMTA S M, WOOD D P, PAPADIMITRIOU M. Gene expression of vascular endothelial growth factor in giant cell tumors of bone. *Human Pathol*. 2000; 31: 804-812.
42. GIATROMANOLAKI A, KOUKOURAKIS M I, KAKOLYRIS S, TURLEY H, O'BYRNE K, SCOTT P A E, PEZZELLA F, GEORGOULIAS V, HARRIS A L, GATTER K C. Vascular endothelial growth factor, wild-type p53, and angiogenesis in early operable non-small lung cancer. *Clin Cancer Res*. 1997; 3: 2485-2492.
43. SEMENZA G L. Regulation of mammalian O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1999; 15: 551-578.
44. YAMASAKI F, YOSHIOKA H, HAMA S, SUGIYAMA K, ARITA K, KURISU K. Recurrence of meningiomas. Influence of vascular endothelial growth factor expression. *Cancer*. 2000; 89: 1102-1110.
45. NAKANO T, OKA K, ARAI T. Histological and immunohistochemical prediction for local control of cervical squamous cell carcinoma treated with radiotherapy alone. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*. 1990; 19: 1011-1019.
46. LAGRANGE J L, COURDI A, CHAUVEL P, GIOANNI J, ETTORRE F, BONGAIN A, DUFORESTEL T, GILLET J Y. The labelling index in carcinoma of the uterine cervix: its correlation with tumour sterilization. *Br J Radiol*. 1992; 65: 63-65.
47. COLE D J, BROWN D C, CROSSLEY E, ALCOCK C J, GATTER K C. Carcinoma of the cervix uteri: an assessment of the relationship of tumour proliferation to prognosis. *Br J Cancer*. 1992; 65: 783-785.
48. WILLET C G, WARLAND G, HAGAN M P, DALY W J, COEN J, SHELLITO P C, COMPTON C C. Tumor proliferation in rectal cancer following preoperative irradiation. *J Clin Oncol*. 1995; 13: 1417-1424.
49. TSANG R W, FYLES A W, MILOSEVIC M, SYED A, PINTILIE M, LEVIN W, MANCHUL L A. Interrelationship of proliferation and hypoxia in carcinoma of the cervix. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*. 2000; 46: 95-99.
50. ZEMAN E M, CALKINS D P, CLINE J M, THRALL D E, RALEIGH J A. The relationship between proliferative and oxygenation status in spontaneous canine tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993; 27: 891-898.
51. ESCHWEGE F, BOURHIS J, GIRINSKI T, LARTIGAU E, GUICHARD M, DEBLE D, KEPTA L, WILSON G D, LUBOINSKI B. Predictive assays of radiation response in patients with head and neck squamous cell carcinoma: a review of the Institute Gustave Roussy experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1997; 39: 849-853.

## Impacto de una intervención de retroinformación y autoevaluación en la reducción de ingresos inadecuados en servicios de Cirugía General

### Impact of an intervention of feedback and self-assessment in the reduction of inadequate hospital admissions on Surgical Departments

- 1 Fundación Instituto de Investigación en Servicios de Salud
- 2 Inspección de Servicios Sanitarios. Inspección Médica de Elche
- 3 Servicio de Medicina Preventiva. Hospital Univ. de San Juan
- 4 Servicio de Medicina Preventiva. Hospital General de La Vila Joiosa
- 5 Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital Univ. de Elche
- 6 Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital Univ. de San Juan
- 7 Unidad de Documentación Clínica y Admisión. Hospital Univ. de Elche
- 8 Servicio de Medicina Preventiva. Hospital Univ. de Elche
- 9 Unidad de Calidad. Fundación Hospital Alcorcón

- Antón P.<sup>1,2</sup>  
Peiró S.<sup>1</sup>  
Aranaz J. M.<sup>3</sup>  
Ruíz V.<sup>2</sup>  
Leutscher E.<sup>1,4</sup>  
Calpena R.<sup>5</sup>  
Compañ A.<sup>6</sup>  
Pérez C. I.<sup>7</sup>  
Navarro J. F.<sup>8</sup>  
Lorenzo S.<sup>9</sup>

#### RESUMEN

**Objetivos:** Evaluar la efectividad de una intervención sobre los facultativos especialistas en Cirugía General, en la reducción de los ingresos inadecuados de la hospitalización.

**Material y método:** Se realizó una intervención que incluía componentes educativos, de retroinformación y autoevaluación sobre dos servicios de Cirugía General (grupo intervención, GI) de la provincia de Alicante, en los que se evaluó el porcentaje de ingresos inadecuados con el *Appropriateness Evaluation Protocol* antes, durante y después de la intervención. Un tercer servicio sirvió como grupo control (GC).

**Resultados:** El porcentaje de ingresos inadecuados en el GI se redujo significativamente desde el 24,6% en el período basal al 7,9% durante la intervención (descenso relativo de un 68%,  $p < 0,01$ ) y 8,1% en el período posterior. El GC no experimentó cambios significativos. La reducción de ingresos inadecuados se produjo fundamentalmente a expensas de una reducción de las «admisiones prematuras», desde el 20% en el período basal, al 3,9% durante la intervención (descenso relativo de un 80%,  $p < 0,01$ ) y 5,0% en el período posterior.

**Conclusiones:** La retroinformación activa a los clínicos de los servicios de Cirugía General sobre el porcentaje de ingresos y estancias innecesarias, apoyada por medidas educativas y de autoevaluación, fue efectiva para disminuir la proporción de ingresos inadecuados.

**Palabras clave:** Revisión de la utilización, hospitalización inadecuada, retroinformación, autoevaluación.

Antón P, Peiró S, Aranaz J M, Ruíz V, Leutscher E, Calpena R, Compañ A, Pérez C I, Navarro J F, Lorenzo S  
Impacto de una intervención de retroinformación y autoevaluación en la reducción de ingresos inadecuados en servicios de Cirugía General  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 11-19

**Correspondencia:**  
Pedro Antón García  
Centro de Especialidades San Fermín  
C/ Jorge Juan, 46  
03201 Elche (Alicante)  
E-mail: anton\_ped@gva.es

#### ABSTRACT

**Background:** Evaluation of the effectiveness of an intervention on surgical specialists, in the reduction of inadequate hospital admissions.

**Material and methods:** We made an intervention which included educational components, feedback and self evaluation on two Surgical Departments (intervention group, IG) in the province of Alicante, where we evaluated the percentage of inadequate hospital admissions with the *Appropriateness Evaluation Protocol* before, during and after the intervention. A third service served as a control group (CG).

**Results:** The percentage of inadequate hospital admissions in the IG was reduced significantly from 24.6% in the baseline period to 7.9% during the intervention (a relative reduction of 68%,  $p < 0.01$ ) and increased to 8.1% after the intervention. The CG did not show any significant differences. The reduction of inadequate hospital admissions was mainly due to a reduction of «premature admissions», from 20% in the baseline period to 3.9% during the intervention (relative reduction of 80%,  $p < 0.01$ ) and 5% after the intervention.

**Conclusions:** The active feedback on the clinicians of the Surgical Departments regarding their own percentage of unnecessary hospital admissions and stays, supported by educational and a self-assessment components, was effective in order to reduce the percentage of inadequate hospital admissions.

**Key words:** Utilisation review, inappropriate hospitalisation, feedback, self-assessment.

Antón P, Peiró S, Aranaz J M, Ruíz V, Leutscher E, Calpena R, Compañ A, Pérez C I, Navarro J F, Lorenzo S  
Impact of an intervention of feedback and self-assessment in the reduction of inadequate hospital admissions on Surgical Departments  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 11-19

**Fecha de recepción:** 12 de septiembre de 2003

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación financiado por la Fundación Mapfre Medicina (1999/2000). El estudio contó con financiación complementaria de la Fundación Instituto de Investigación en Servicios de Salud.

European Bone &  
Joint Infection Society

Istituto Ortopedico  
Gaetano Pini

EUROPEAN BONE AND JOINT INFECTION SOCIETY

23rd Annual Meeting  
FIRST ANNOUNCEMENT

Università degli Studi  
«Fondazione Ambrosiana»  
Via S. Antonio, 5  
Milano, May 27-29, 2004

www.keyword-europa.it/ebjis2004

## INTRODUCCIÓN

La utilización inadecuada de la hospitalización se ha definido como el ingreso hospitalario para proporcionar asistencia que podría haber sido realizada en un nivel asistencial de menor complejidad (1). En general, el uso inadecuado de la hospitalización se identifica mediante la revisión retrospectiva de la atención prestada cada uno de los días de hospitalización y suele diferenciarse entre el día del ingreso hospitalario y las estancias sucesivas. La evaluación de la adecuación del ingreso valora la pertinencia de la admisión en el momento en que ésta se produce, y no la totalidad del episodio de hospitalización, pudiendo existir estancias apropiadas en ingresos inapropiados y viceversa. Así, un ingreso para cirugía programada dos días antes de la fecha de la intervención sería valorado cómo inapropiado, pero la estancia del día de la intervención y otras podrían ser valoradas como apropiadas según el estado del paciente y la intensidad de los cuidados.

Los estudios en España (2, 3) y Europa (4, 5), y pese a las dificultades para su agregación por las diferencias metodológicas, sugieren que uno de cada cuatro ingresos podría ser inadecuado. En el caso de la Cirugía General los estudios realizados muestran porcentajes muy variables de ingresos inadecuados según hospitales, tipo de ingreso (urgente o programado) y diagnóstico, pero también parecen situarse en torno al 20-25% de los ingresos (6). La importancia de este porcentaje contrasta con la escasez de estudios que hayan evaluado intervenciones para reducir los ingresos inadecuados (7-9). Adicionalmente, y a diferencia de los estudios que evalúan el impacto de las intervenciones en la reducción de las estancias inadecuadas (10-13), en el caso de los ingresos inadecuados las intervenciones evaluadas no se han mostrado eficaces para reducir este problema.

El objetivo de este trabajo es evaluar la efectividad de una intervención mixta (con componentes educativos, de retroinformación y autoevaluación) en la reducción de ingresos inadecuados en Cirugía General, utilizando un diseño antes-después con grupo control. La hipótesis básica de la investigación fue que la intervención produciría una disminución de los ingresos inadecuados en el grupo expuesto, respecto a un período basal previo a la intervención, mientras que el grupo control no mostraría variaciones en ingresos inadecuados.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Diseño

Estudio cuasi-experimental antes-después con grupo control no equivalente, en el que de forma global se estudiaba el impacto de una intervención en la utilización inadecuada de la hospitalización.

### Ámbito

El estudio se realizó en tres hospitales universitarios del Sistema Nacional de Salud, ubicados en las ciudades de Alacant, Elx y Sant Joan, que prestan atención a 253.000, 229.000 y 196.000 habitantes, respectivamente. Los tres hospitales están acreditados para la docencia de postgrado, incluida la especialidad de Cirugía General, y de pregrado, y disponen de unidades de cirugía sin ingreso y de hospitalización a domicilio.

### Grupos de exposición

El grupo intervención (GI) estuvo integrado por los servicios de Cirugía General de dos de estos hospitales, con 53 y 28 camas asignadas, índices de casuística de 1,16 y 0,98 e índices de ocupación en torno al 80%. El grupo control fue el servicio de Cirugía General del hospital restante, con 47 camas asignadas, índice de casuística de 1,18 e índice de ocupación en torno al 95% (datos referidos a 1999, año previo al inicio de la intervención).

### Intervención

Se realizó una intervención de tipo mixto, con componentes educativos, de autoevaluación y de retroinformación. Secuencialmente, la intervención constó de: 1) charla estructurada a los jefes de servicio, previa a la intervención, de los tres hospitales, explicando los conceptos de hospitalización inadecuada, sus causas más frecuentes, y los datos publicados de otros hospitales sobre la base de la revisión de la literatura realizada; 2) recogida de datos en los propios servicios, de forma concurrente, durante todo el período del estudio; 3) charla estructurada a los facultativos de los servicios del GI, explicando el tipo de intervención a realizar y la operativa de la autoevaluación; 4) autoevaluación diaria de la adecuación de los días de estancia por parte de los facultativos

del GI utilizando el *adeQhos®*, un instrumento desarrollado al efecto y cuyas características y propiedades se detallan en otro trabajo (14), durante dos semanas consecutivas; y 5) retroinformación a los clínicos del GI, a mitad del período intervención, sobre sus propios porcentajes de inadecuación de la hospitalización en el período basal. La intervención no incluyó incentivos económicos ni de otro tipo, aunque contó con la colaboración de los jefes de servicio del GI.

### Medidas de resultado

La medida de resultado utilizada fue la reducción en el porcentaje de ingresos inadecuados, identificado con el *Appropriateness Evaluation Protocol* (AEP) (15, 16) en el período intervención respecto al período basal.

### Otras variables

Las variables examinadas incluyeron la evaluación del ingreso (clasificado como apropiado o inapropiado, y especificación de la causa cuando un ingreso fue clasificado como inapropiado), la edad y el sexo del paciente y el día de la semana evaluado (laboral o fin de semana), la realización o no de cirugía durante la hospitalización, el tipo de ingreso (urgente o programado) y la duración del episodio (mayor o menor de siete días).

### Instrumentos

Se usó una versión del AEP para pacientes adultos médico-quirúrgicos previamente validada en España (17, 18). El AEP está formado por dos conjuntos de criterios, objetivos e independientes del diagnóstico, destinados respectivamente a la identificación de ingresos y de estancias inapropiadas en pacientes adultos, no psiquiátricos y no obstétricos. El protocolo de evaluación del ingreso está constituido por 16 criterios dirigidos a evaluar la necesidad de la hospitalización en el día en que ésta se produjo y valora la gravedad de la situación clínica del paciente y la intensidad de los servicios que se le prestan (15-18). Este protocolo dispone también de un listado de causas de ingreso inadecuado que, básicamente, recogen las siguientes situaciones: 1) ingresos en que la atención prestada al paciente podía haberse efectuado de forma ambulatoria; 2) ingresos que podrían haberse efectuado en otros niveles asistenciales, como centros de larga estancia o residencias asis-

tidas; y 3) ingresos que se llevan a cabo para procedimientos programados que no se realizarán hasta varios días después (admisión prematura). Como parte de la intervención se utilizó también el *adeQhos®*, empleado por los cirujanos del GI para la autoevaluación diaria de la adecuación de las estancias durante el pase de visita. Las características y operativa de utilización se exponen en el Anexo I.

### Muestra

La unidad de análisis es el día de ingreso de los pacientes hospitalizados en los respectivos servicios de Cirugía General durante los tres períodos del estudio. Se excluyeron de la selección los ingresos correspondientes a los niños menores de ocho años y aquellos en los que el paciente se hallaba bajo la responsabilidad de otro servicio (por ejemplo en la Unidad de Cuidados Intensivos, Reanimación, Digestivo, Oncología...), ya que tales servicios no formaban parte de la intervención. El tamaño muestral fue calculado para detectar una reducción (pruebas de una sola cola) del 25% al 10% en el porcentaje de ingresos inadecuados entre el período basal y el período de intervención (reducción absoluta de un 15% y reducción relativa del 60%), con un error tipo I de 0,05 y un poder de 0,80 ( $n = 57$  en período basal y  $n = 113$  en período de intervención).

### Proceso del estudio

El trabajo de campo se realizó durante los meses de mayo y junio de 2000 y comprende tres períodos diferenciados: 1) el período basal o preintervención, comprendió la semana del 8 a 14 de mayo de 2000; 2) tras una semana de lavado comenzó el período de intervención, de dos semanas de duración, desde el 22 de mayo al 4 de junio; 3) tras dos semanas de lavado comenzó el período postintervención en la semana del 19 a 25 de junio. Las mediciones se realizaron en cada uno de los períodos, incluyendo fines de semana. Se evaluaron un total de 407 ingresos, correspondiendo 128 al GC (preintervención: 33; intervención: 73; postintervención: 22), y 279 al GI (preintervención: 65; intervención: 152; postintervención: 62). Las historias clínicas fueron revisadas independientemente por dos médicos y un enfermero que previamente habían recibido entrenamiento con historias no incluidas en el estudio. Este entrenamiento incluyó el estudio del manual de revisión del protocolo (18) y la revisión inde-

pendiente de 12 historias clínicas en las que se analizaron los índices de concordancia más usuales (19), mostrando índices de acuerdo superiores al 95% y valores del estadístico Kappa en niveles de acuerdo excelente. En los tres períodos y en ambos grupos, la evaluación se realizó sobre la historia disponible en la sala de hospitalización, mientras el paciente permanecía ingresado.

**Autorizaciones, confidencialidad y ética de la investigación**

El proyecto contó con las autorizaciones de las correspondientes administraciones para su desarrollo en ambos hospitales, y la colaboración de los respectivos jefes de servicio, además de ser aprobado por las comités de investigación y ética de los hospitales del GI. Los formularios empleados y las base de datos utilizada no incorporaban datos identificativos de ningún paciente, salvo el número de historia clínica (conservado para permitir la recuperación y revisión de la historia en caso necesario). Este número se mantuvo en una base de datos separada de la empleada para el análisis, a la que sólo tuvo acceso el investigador principal.

**Análisis estadístico**

Se realizó un análisis descriptivo de las características de los ingresos en el grupo control y gru-

po de intervención y en los tres períodos analizados, utilizando la prueba de la  $\chi^2$  (sustituida, en su caso, por la prueba exacta de Fisher). A continuación se estimaron los porcentajes de ingresos inadecuados, total y para los diferentes tipos de causas, en su caso, con los correspondientes intervalos de confianza del 95% (IC95%) calculados por el método binomial exacto. Seguidamente se valoró la efectividad de la intervención, comparando el porcentaje de ingresos inadecuados entre el período preintervención e intervención en el GI, utilizando la prueba de diferencia de proporciones. De acuerdo con las hipótesis previas, se utilizó la reducción (pruebas de una sola cola) del porcentaje de estancias inadecuadas en el GI entre los períodos preintervención e intervención para valorar la efectividad, mientras que los posibles cambios en el GC se utilizaron con el fin de monitorizar la tendencia o detectar otros factores que pudieran influir en los resultados. Los análisis fueron realizadas utilizando los programas estadísticos SPSS versión 11.0 y Epiinfo V.6.

**RESULTADOS**

En la Tabla I se muestran las características de los casos revisados en el GI y en el GC durante los tres períodos del estudio. No se hallaron diferencias entre grupos ni entre períodos respecto a la

edad, sexo, porcentaje de ingresos intervenidos o duración de la hospitalización. En torno al 20% de los ingresos se produjeron en fin de semana, con una distribución homogénea excepto en el GC y período posterior a la intervención (sin ingresos en fin de semana). En el GC se produjo un incremento de la proporción de ingresos urgentes a lo largo del estudio. El porcentaje de ingresos inadecuados en el conjunto del estudio fue del 15% (IC95%: 11,66-18,83), siendo la «admisión prematura» la causa más frecuente de ingresos inadecuados tanto en el GC como en el GI (Tabla II). Otras causas de inadecuación como la posibilidad de prestar la misma atención ambulatoriamente o en centros de menor complejidad tuvieron poca importancia.

En la Tabla III y Figura 1 se muestran los porcentajes de ingresos inadecuados en cada uno de los períodos del estudio, que para el GC fueron del 27,3% (período preintervención), 21,9% (durante el período intervención) y 13,6% (período postintervención), sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos. En el GI se produjo una reducción de ingresos inadecuados desde el

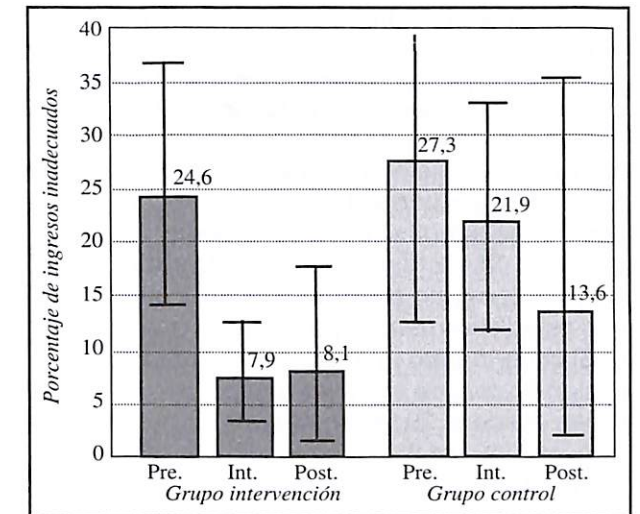


Figura 1. Porcentaje de ingresos inadecuados y diferencias entre períodos en los grupos intervención y control

24,6% en el período preintervención, al 7,9% durante el período intervención, manteniéndose en el 8,1% en el período postintervención, siendo es-

**TABLA I. Características de los ingresos en los grupos intervención y control durante los períodos previo, intervención y postintervención (porcentaje entre paréntesis)**

		Grupo control			Grupo intervención		
		Previo	Intervención	Posterior	Previo	Intervención	Posterior
Edad	< 45 años	14 (42,4)	25 (34,2)	5 (22,7)	23 (35,4)	38 (25,0)	22 (35,5)
	45-64 años	7 (21,2)	27 (37,0)	6 (27,3)	16 (24,6)	59 (38,8)	18 (29,0)
	> 64 años	12 (36,4)	21 (28,8)	11 (50,0)	26 (40,0)	55 (36,1)	22 (35,5)
Sexo	Mujer	17 (51,5)	28 (38,4)	10 (45,6)	26 (40,0)	69 (45,4)	24 (38,7)
	Hombre	16 (48,5)	45 (61,6)	12 (54,5)	39 (60,0)	83 (54,6)	38 (61,3)
Días	Laboral	26 (78,8)	56 (76,7)	22 (100,0)	50 (76,9)	123 (80,9)	50 (80,6)
	Fin de semana	7 (21,2)	17 (23,3)	0 (0,0)	15 (23,1)	29 (19,1)	12 (19,4)
Cirugía	No	4 (12,1)	11 (15,1)	7 (31,8)	11 (16,9)	32 (21,1)	14 (22,6)
	Sí	29 (87,9)	62 (84,9)	15 (68,2)	54 (83,1)	120 (78,9)	48 (77,4)
Admisión	Programada	21 (63,6)	33 (45,2)	6 (27,3)	37 (56,9)	80 (52,6)	29 (46,8)
	Urgente	12 (36,4)	40 (54,8)	16 (72,7)	28 (42,1)	72 (47,4)	33 (53,2)
Duración	< 7 días	20 (60,6)	41 (56,2)	11 (50,0)	45 (69,2)	111 (73,0)	37 (59,7)
	> 7 días	13 (39,4)	32 (43,8)	11 (50,0)	20 (30,8)	41 (27,0)	25 (40,3)
Total		33 (100,0)	73 (100,0)	22 (100,0)	65 (100,0)	152 (100,0)	62 (100,0)

La p corresponde a la prueba de  $\chi^2$ , sustituida por el test de Fisher cuando fue necesario.

**TABLA II. Ingresos inadecuados por causas, en grupos control e intervención en los períodos antes, durante y después de la intervención. Porcentaje entre paréntesis**

Causas inadecuación		Grupo control (n = 128)			Grupo intervención (n = 279)		
		Previo (n = 33)	Intervención (n = 73)	Posterior (n = 22)	Previo (n = 65)	Intervención (n = 152)	Posterior (n = 62)
Causas inadecuación	Atención ambulatoria	0 (0,00)	3 (9,09)	0 (0,00)	1 (1,54)	4 (2,63)	0 (0,00)
	Institución no hospitalaria	1 (3,03)	1 (1,37)	0 (0,00)	2 (3,08)	2 (1,32)	2 (3,23)
	Ingreso prematuro	8 (24,24)	12 (16,44)	3 (13,64)	13 (20,00)	6 (3,95)	3 (4,84)
Total		9 (27,28)	16 (21,92)	3 (13,64)	16 (24,62)	12 (7,90)	5 (8,07)

**TABLA III. Porcentaje de ingresos inadecuados y diferencias entre períodos en los grupos intervención y control**

		Grupo control (n = 128)			Grupo intervención (n = 279)		
		n	%	IC95%	n	%	IC95%
Inadecuación según períodos	Previo	33	27,3	(13,3; 45,5)	65	24,6	(14,8; 36,9)
	Intervención	73	21,9	(13,1; 33,1)	152	7,9	(4,1; 13,4)
	Posterior	22	13,6	(2,9; 34,9)	62	8,1	(2,7; 17,87)
Total		128	21,8	(15,1; 30,0)	279	11,8	(8,28; 16,2)
Diferencias entre períodos	Previo-intervención		-5,35	(-23,3; 12,6)		-16,7	(-28,0; -5,4)
	Intervención-posterior		-8,28	(-25,5; 8,9)		1,7	(-7,85; 8,2)
	Previo-posterior		-13,6	(-34,5; 7,3)		-16,6	(-29,0; -4,1)

IC95%: Intervalo de confianza del 95%.

estadísticamente significativas las diferencias entre el período preintervención y los períodos intervención y postintervención. Al analizar la proporción de ingresos inadecuados atribuibles a «admisión prematura» (Tabla IV), el comportamiento fue similar al relatado para el total de ingresos. El GC mostró un porcentaje de ingresos inadecuados por este motivo del 24,2% (período preintervención), 16,4% (durante el período intervención) y 13,6% (período postintervención), sin diferencias estadísticamente significativas, mientras que el GI experimentó una reducción estadísticamente significativa de ingresos inadecuados por esta causa desde el 20,0% en el período preintervención, al 3,9% y 4,8% en los períodos intervención y postintervención, respectivamente.

### DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que en el GI se produjo una reducción de ingresos inadecuados desde el 24,6% en el período basal al 7,9% en el período intervención (reducción absoluta de 16,7 puntos, y relativa del 67,9%;  $p < 0,01$ ), mientras que el GC pasó del 27,3% al 21,9% (reducción absoluta de 5,3 puntos, y relativa del 19,6%;  $p$ : no significativa), permitiendo aceptar la hipótesis de que la intervención sobre el GI produjo una disminución de los ingresos inadecuados respecto al período basal. Adicionalmente, el nivel de inadecuación de ingresos conseguido por el GI se mantuvo en las semanas siguientes al cese de la intervención. Esta reducción se consiguió fundamentalmente a expensas de una reducción

de las «admisiones prematuras» (la causa más importante de ingresos innecesarios en los servicios quirúrgicos) que pasaron del 20% en el período basal, al 3,9% durante la intervención (descenso relativo de un 80%,  $p < 0,01$ ) y 4,8% en el período posterior. En el GC también se produjo una reducción de ingresos inadecuados (que no fue estadísticamente significativa), probablemente derivada de un incremento de los ingresos urgentes respecto a los programados.

El resultado a favor de la efectividad de la intervención difiere del de otros estudios que han evaluado intervenciones para reducir ingresos inadecuados. Así, Siu *et al.* (7) utilizaron un diseño con asignación aleatoria para averiguar si el copago por parte de los usuarios influía en la adecuación de la hospitalización, no hallando diferencias en cuanto a inadecuación de los ingresos en función del mismo. Payne *et al.* (8) usaron un diseño cuasi-experimental con asignación aleatoria para valorar si los incentivos económicos y el pago prospectivo influían en la adecuación de la hospitalización, sin encontrar diferencias significativas en ingresos inadecuados entre grupos, aunque sí un descenso secular en ambos grupos. Finalmente, Cardiff *et al.* (9), en Canadá y utilizando un instrumento diferente al AEP, utilizaron un diseño antes-después con grupo control para valorar el impacto de la retroinformación en la inadecuación hospitalaria, sin conseguir una disminución de ingresos inadecuados en ninguno de los hospitales a estudio. Las diferencias entre estos trabajos y el actual, y al margen de las propias del entorno y tipo de hospitales con Estados Unidos y Canadá, se explican probablemente porque en este caso la intervención fue dirigida directa-

mente a los facultativos (no a los pacientes como el copago, o al conjunto del hospital como los sistemas de pago prospectivos), contó con el respaldo de sus jefes de servicio e incluía un importante componente de autoevaluación por los propios facultativos.

Entre las precauciones y limitaciones a tener en cuenta hay que considerar diversas amenazas a la validez interna características de los diseños antes-después con grupo control no equivalente. Que el efecto detectado pudiera deberse a otras intervenciones (administrativas, gestoras, etc.) no relacionadas con la intervención evaluada es improbable dado el breve período de tiempo en que ésta se desarrolló, que todos los hospitales dependían de la misma institución, y que no se detectó el desarrollo de estrategias diferenciales entre hospitales en el período de estudio. El problema de regresión a la media de las puntuaciones preintervención no explicaría los cambios producidos y, adicionalmente, hubiera sido esperable una mayor reducción en el GC (que partía de niveles basales más elevados). La posibilidad de que diferencias entre el GC y el GI —y no la intervención— fueran la causa de las diferencias en resultados es también improbable. Aunque las diferencias entre grupos son esperables dadas las características del diseño, la ausencia de diferencias relevantes en las variables basales y, sobre todo, la rápida y brusca reducción de ingresos inadecuados en el GI durante el período intervención no parecen justificables por diferencias entre grupos. Aunque la posibilidad de contaminación existe (el GC conocía que se iba a realizar el estudio) las condiciones de desarrollo de la intervención (dispersión territorial de los hospitales y el tiempo mínimo en el que se desarrolló la intervención) hacen poco verosímil que pueda haber tenido un efecto importante. En todo caso, el fenómeno de contaminación podría contribuir a explicar la reducción de ingresos inadecuados en el GC, pero no el impacto sobre el GI. Finalmente, el efecto Hawthorne (efectos «novedad» y «deseabilidad social») podría haber contribuido en alguna medida a los resultados obtenidos, especialmente al venir reforzados estos efectos por la implicación de los jefes de servicio y la visibilidad de la investigación al utilizarse la revisión concurrente en la salas de hospitalización. En este sentido, hay que señalar que estos efectos formaban parte del diseño de la intervención, y que no es esperable obtener similares resultados al replicar la intervención sin el apoyo de los jefes de servicio o de una forma menos visible.

Entre las limitaciones de los resultados también hay tener en cuenta algunos otros aspectos. Las limitaciones del AEP para identificar ingresos y estancias inadecuadas, ampliamente descritas en otros trabajos (17, 20, 21), afectarían de forma similar a todos los grupos. La falta de ajuste por gravedad de los casos, a pesar del mayor índice de casuística del grupo control, es poco probable que haya influido en los resultados obtenidos ya que llevaría a una mayor intensidad de servicios en el GC que, a su vez, conduciría a una menor proporción de uso inadecuado (dada la sensibilidad del AEP a la gravedad de los pacientes e intensidad de los cuidados prestados), mientras que el GI mantuvo en los tres períodos porcentajes de inadecuación inferiores a los del GC. Finalmente, cabría esperar diferencias en adecuación en función de la mayor o menor calidad de las historias clínicas (las historias clínicas poco documentadas producirían una proporción de inadecuación mayor a la real [22], al no encontrar ningún criterio de adecuación). Este aspecto pierde importancia al haberse realizado un análisis antes-después intra-grupo (antes que una comparación entre grupos). Adicionalmente, su efecto sería discreto, dado que al analizar la asociación entre el grado de cumplimentación de la historia y el porcentaje de inadecuación no se ha hallado correlación entre ambos (23).

Aunque en las evaluaciones de intervenciones resulta difícil aislar el efecto de la intervención del de otras variables de entorno y de los aspectos contextuales de la misma (desde la elección y modo de plantear el problema, hasta la forma en que se hacen las cosas, pasando por la obtención de colaboración, la elaboración de instrumentos cómodos, la empatía de los evaluadores y el clima organizacional), los resultados de este estudio indican que la intervención realizada fue efectiva para reducir de forma importante el porcentaje de ingresos inadecuados, y esta mejora se debió fundamentalmente a una mejor organización de los procesos de ingreso programado, reduciendo de forma muy importante las «admisiones prematuras». Probablemente no existen fórmulas mágicas para incrementar la calidad de los cuidados de salud (24), pero disponemos de un amplio rango de intervenciones para conseguir mejoras sustanciales en la efectividad y eficiencia de la atención prestada, y los resultados de este estudio apoyan el desarrollo de intervenciones similares (aun adaptadas a cada entorno) incluso en entornos con tan pocos incentivos —económicos o no— como el Sistema Nacional de Salud español.

**TABLA IV. Porcentaje de ingresos inadecuados y diferencias entre períodos en los grupos intervención y control. Ingresos inadecuados atribuidos a «admisión prematura»**

		Grupo control (n = 128)			Grupo intervención (n = 279)		
		n	%	IC95%	n	%	IC95%
Inadecuación según períodos	Previo	33	24,2	(11,1; 42,3)	65	20,0	(11,1; 31,8)
	Intervención	73	16,4	(8,8; 26,9)	152	3,9	(1,5; 8,4)
	posterior	22	13,6	(2,9; 34,9)	62	4,8	(1,1; 13,5)
	Total	128	18,0	(11,7; 25,7)	279	10,3	(6,6; 15,1)
Diferencias entre períodos	Previo-intervención		-7,8	(-24,7; 9,1)		-16,1	(-26,3; -5,8)
	Intervención-posterior		-2,8	(-19,5; 1,4)		0,9	(-5,3; 7,1)
	Previo-posterior		-10,6	(-31,1; 9,9)		-15,2	(-26,3; -4,1)

IC95%: Intervalo de confianza del 95%.

### ANEXO 1. Características y operativa de utilización de *adeQhos*

Básicamente *adeQhos*® es un instrumento diseñado para la identificación de la inadecuación de la estancia hospitalaria, por los propios clínicos y durante el pase de visita, y para ello se requería: 1) que fuera capaz de valorar la adecuación/inadecuación de la hospitalización en pacientes adultos ingresados en servicios médicos o quirúrgicos, 2) que pudiera ser empleado de forma concurrente por los propios clínicos en el pase de sala usual, 3) de manejo sencillo y que pudiera cumplimentarse de forma muy rápida para no sobrecargar la visita, 4) con alta validez de apariencia para facilitar su implantación y uso, 5) que ofreciera resultados poco ambiguos para estimular la toma de decisiones, 6) que pudiera aplicarse a partir de la información disponible usualmente en la historia o, preferiblemente, directamente por el clínico responsable de la asistencia del paciente y, 7) que permitiera orientar las actividades de mejora mediante un listado de causas de uso inadecuado.

Parte de las características buscadas para el *adeQhos*® se hallaban en dos instrumentos preexistentes: El *Appropriateness Evaluation Protocol* (AEP) y el *Oxford Bed Study Instrument* (OBSI). A partir de los criterios del formulario para la evaluación de estancias del AEP se procedió a su valoración y adaptación para el uso concurrente en la visita médica a pacientes hospitalizados. Dado que el AEP valora la gravedad y los cuidados prestados en cada una de las estancias, pero en el pase de visita —usualmente a primera hora de la mañana— pueden no haberse realizado todavía algunos cuidados que justifican el ingreso, el *adeQhos*® fue diseñado para valorar la necesidad de la estancia del día previo al que se está pasando la visita. Igualmente, tras contrastar con la práctica en nuestro medio, se optó por secuenciar los criterios —a diferencia del AEP— siguiendo en lo posible la lógica de las estancias sucesivas de un paciente hospitalizado en un servicio quirúrgico (la secuencia podría alterarse en el caso de los servicios médicos), de forma que fuera más fácil y rápido para los clínicos cumplimentar sus apartados.

El *adeQhos*® consta de cuatro apartados. El primero, destinado a cumplimentar los datos identificativos de la estancia que se está revisando e incluye la ubicación física (hospital, servicio, número de historia clínica y número de cama) y datos temporales (fecha en que se realiza la evaluación y fecha de la estancia evaluada (usualmente el día previo al de la evaluación)). Este apartado también permite conocer, en su caso, el motivo de no realizar la evaluación (el paciente no estaba, corresponde al día del ingreso o del alta, o es menor de ocho años). El segundo bloque contiene los criterios de evaluación de la adecuación de la estancia, que tienen un equivalente claro con los criterios del AEP y del OBSI (aspecto buscado como un componente importante de la validez de apariencia) aun con la adaptación del lenguaje temporal a la revisión del día anterior al pase de visita. El tercer apartado introduce el juicio clínico no estructurado, permitiendo que el evaluador considere adecuadas según su criterio estancias que no cumplían ninguno de los siete criterios del apartado previo. Este apartado funcionaría de forma similar a las sobrerrevisiones (*override*) que suelen emplearse tras el uso del AEP, valorando con criterios subjetivos la adecuación de las estancias consideradas inadecuadas por el instrumento. El último apartado es un listado de causas de inadecuación, adaptado del AEP y, parcialmente, del OBSI.

El *adeQhos*® se realizó en formato A-5, con color de fondo amarillo similar a las notas de autopegado, utilizándose autoadhesivo para su pegado en la historia clínica. La operativa de utilización fue: 1) precumplimentación de datos de la estancia seleccionada para revisión en el primer apartado; 2) pegado —en lugar visible— en la historia clínica correspondiente en el frontal de la historia clínica; 3) el facultativo responsable de la asistencia al paciente, durante el pase de visita, valoraba y cumplimentaba (sí/no) los criterios del 1 al 7 que evalúan la adecuación de la estancia, y que se refieren a la estancia del día inmediatamente anterior. Si un solo criterio era afirmativo, el día se evaluaba como adecuado y la revisión finalizaba; 4) si, por el contrario, en la estancia del día previo el paciente no cumplía ninguno de los criterios, se pasaba a cumplimentar el siguiente apartado, en el que el facultativo debía decidir, si desde el punto de vista estrictamente clínico, el paciente necesita o no seguir ingresado. Si el facultativo decidía que la estancia era clínicamente necesaria, pese a no cumplir ningún criterio del *adeQhos*®, finalizaba la autoevaluación; 5) en caso de que el facultativo decidía que la estancia era clínicamente innecesaria debía señalar alguna/s de las causas de inadecuación propuestas en el apartado siguiente (se incluyó un apartado de «otros», con el fin de que pudieran ser especificadas causas de inadecuación no recogidas en el cuestionario o cualquier otro aspecto relacionado con la asistencia del paciente en el día de estancia evaluado).

Los diversos facultativos de ambos servicios del GI cumplimentaron diariamente el *adeQhos*® al tiempo que pasaban visita a los pacientes, sobre las diez de la mañana. Al finalizar la visita se retiraba el cuestionario y se sustituía por otro para cumplimentar el día siguiente. Simultáneamente se realizaba una evaluación externa de la adecuación de las mismas estancias usando el AEP en la forma tradicional. El tiempo promedio de revisión con *adeQhos*® fue de un minuto por paciente y día.

### BIBLIOGRAFÍA

1. PEIRÓ S, MENEU R. Revisión de la utilización. Definición, concepto, métodos. *Rev Calidad Asistencial*. 1997; 12: 122-136.
2. LORENZO S, SUÑOL R. An overview of Spanish studies on appropriateness of hospital use. *Int J Qual Health Care*. 1995; 7: 213-218.
3. MENEU R, PEIRÓ S. La revisión del uso inapropiado de la hospitalización en España: ¿de la comunicación científica a la utilización práctica?. *Todo Hospital*. 1997; 134: 53-60.
4. LIBERATTI A, APOLONE G, LANG T, LORENZO S. A European Project Assessing the Appropriateness of hospital utilization: Background, objectives and preliminary results. *Int J Qual Health Care*. 1995; 7: 187-199.
5. LORENZO S, BEECH R, LANG T, SANTOS-EGGIMANN B. An experience of utilization review in Europe: sequel to a BIOMED project. *Int J Qual Health Care*. 1999; 11: 13-19.
6. ANTÓN GARCÍA P. *Impacto de una intervención sobre la utilización inadecuada de la hospitalización, en los servicios de cirugía general de hospitales universitarios de la provincia de Alicante* (tesis doctoral). Elche: Universidad Miguel Hernández, Departamento de Salud Pública, 2003.
7. SIU A L, SONNENBERG F A, MANNING W G, GOLDBERG G A, BLOOMFIELD E S, NEWHOUSE J P, BROOK R H. Inappropriate Use of Hospitals in a Randomized Trial of Health Insurance Plans. *N Engl J Med*. 1986; 315: 1259-1266.
8. PAYNE S M C, ASH A, RESTUCCIA J D. The Role of Feedback in Reducing Medically Unnecessary Hospital Use. *Med Care*. 1991; 29 (suppl): AS91-106.
9. CARDIFF K, ANDERSON G, SEP S. Evaluation of a hospital-based utilization management program. *Health Manage Forum*. 1995; 8 (1): 38-45.
10. RESTUCCIA J D. The effect of concurrent feedback in reducing inappropriate hospital utilization. *Med Care*. 1982; 20: 46-62.
11. RESTUCCIA J D, PAYNE S M C, WELGE C H. *Reducing Inappropriate use of inpatient medical/surgical and pediatric services*. Baltimore: Health Care Financing Administration, 1986.
12. MOZES B, HALKIN H, KATZ A, SCHIFF E. Reduction of redundant hospital stay through controlled intervention. *Lancet*. 1987; 1: 968-969.
13. MOYA-RUIZ C, PEIRÓ S, MENEU R. Effectiveness of feedback to physicians in reducing inappropriate use of hospitalization. *Int J Qual Health Care*. 2002; 14: 305-312.
14. ANTÓN P, PEIRÓ S, ARANAZ J M, CALPENA R, COMPANY A. *adeQhos*, un instrumento para la evaluación de la adecuación de la hospitalización en el pase de visita. *Rev Calidad Asistencial*. 2002; 17: 591-599.
15. GERTMAN P M, RESTUCCIA J D. The Appropriateness Evaluation Protocol: a technique for assessing unnecessary days of hospital care. *Med Care*. 1981; 19: 855-871.
16. RESTUCCIA J D, PAYNE S M C, LENHART G M, CONSTANTINE H P, FULTON J. Assessing the appropriateness of hospital utilization to improve efficiency and competitive position. *Health Care Management Review*. 1987; 12: 17-22.
17. PEIRÓ S, MENEU R, ROSELLO M L, PORTELLA E, CARBONELL-SANCHÍS R, FERNÁNDEZ C, et al. Validez del protocolo de evaluación del uso inapropiado de la hospitalización. *Med Clin (Barc)*. 1996; 107: 124-129.
18. RESTUCCIA J D. *Appropriateness Evaluation Protocol. Manual*. Barcelona: Fundación Avedis Donabedian, 1995. (Versión española de: Restuccia J D. Appropriateness Evaluation Protocol Reviewers Manual. In: *The AEP Final Report. Publication PB87-112041*. Springfield, VA: National Technical Information Service, 1986).
19. FLEISS J L. The measurement of interrater agreement. In: Fleiss J L (ed), *Statistical methods for rates and proportions*. New York: John Wiley & Sons; 1981; pp 212-236.
20. PEIRÓ S, PORTELLA E. Identificación del uso inapropiado de la hospitalización: la búsqueda de la eficiencia. *Med Clin (Barc)*. 1994; 103: 65-71.
21. LORENZO S. Métodos de revisión de utilización de recursos: limitaciones. *Med Clin (Barc)*. 1996; 107: 22-25.
22. PAYNE S M C. Identifying and managing inappropriate hospital utilization: a policy synthesis. *Health Serv Res*. 1987; 22: 709-769.
23. RAMOS-CUADRA A, MARION-BUEN J, GARCÍA-MARTÍN M, FERNÁNDEZ GRACIA J, MORATA-CÉSPEDES M C, MARTÍN-MORENO L, et al. Use of the appropriateness evaluation protocol: the role of medical record quality. The effect of completeness of medical records on the determination of appropriateness of hospital days. *Int J Qual Health Care*. 1995; 7: 267-275.
24. OXMAN A D, THOMSON M A, DAVIS D A, HAYNES R B. No magic bullets: a systematic review of 102 trials of interventions to improve professional practice. *CMAJ*. 1995; 153: 1423-1431.

# Papel del óxido nítrico en la respuesta del IGF-I hepático a la inflamación

## Role of nitric oxide in hepatic IGF-I response to inflammation

<sup>1</sup> Departamento de Fisiología  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense de Madrid  
<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Morfológicas y Fisiología  
Universidad Europea de Madrid

Priego T. <sup>1</sup>  
Ibáñez de Cáceres I. <sup>1</sup>  
Martín A. I. <sup>2</sup>  
López-Calderón A. <sup>1</sup>  
Villanúa M. A. <sup>1</sup>

### RESUMEN

**Objetivos:** Estudiar la implicación del óxido nítrico (NO) en el efecto inhibitorio de la inflamación, tanto aguda como crónica, sobre el factor de crecimiento similar a la insulina-I (IGF-I), ya que este gas es un mediador importante de la respuesta inflamatoria.

**Material y métodos:** Para ello se analizó el efecto del bloqueo de la óxido nítrico sintasa inducida por las citoquinas (iNOS), mediante la administración de aminoguanidina (AG) a ratas macho, sobre la inhibición del IGF-I sérico y hepático que se produce en respuesta a la inflamación. La inflamación aguda se indujo mediante la administración de lipopolisacárido de *E-coli* (LPS), y la crónica, mediante la administración de adyuvante de Freund, que produce en los animales una artritis crónica. Las concentraciones séricas y hepáticas de IGF-I se midieron mediante RIA.

**Resultados:** La administración de AG a ratas artríticas disminuyó el grado de inflamación ( $p < 0,01$ ), pero no modificó el IGF-I sérico o hepático. En las ratas tratadas con LPS, la AG no alteró el IGF-I hepático, pero normalizó el IGF-I sérico.

**Conclusiones:** 1) El NO no participa en el descenso del IGF-I hepático observado en la inflamación aguda o crónica. 2) El NO está implicado en los mecanismos responsables del descenso del IGF-I sérico en la inflamación aguda.

**Palabras clave:** NO, iNOS, artritis, LPS, IGF-I.

Priego T, Ibáñez de Cáceres I, Martín A I, López-Calderón A, Villanúa M A  
Papel del óxido nítrico en la respuesta del IGF-I hepático a la inflamación  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 20-27

### Correspondencia:

M.ª Ángeles Villanúa  
Departamento de Fisiología  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense  
28040 Madrid  
E-mail: anvi@med.ucm.es

### ABSTRACT

**Objective:** To study the role of nitric oxide (NO) in the inhibitory effect of the acute and chronic inflammation on the insulin-like growth factor-I (IGF-I), since this gas is a mediator of inflammation.

**Material and methods:** For this purpose, the inhibition of the enzyme NO synthase inducible by cytokines (iNOS), through aminoguanidine (AG) administration to male rats, and its effect on the decrease in serum and hepatic IGF-I observed during inflammation, was studied. Acute inflammation was induced by administration of bacterial lipopolysaccharide (LPS), and chronic inflammation by administration of Freund adjuvant, that induces chronic arthritis. Serum and hepatic IGF-I concentrations were measured by RIA.

**Results:** AG administration to arthritic rats decreased the severity of inflammation ( $p < 0.01$ ), but it did not modify serum or hepatic IGF-I. In LPS-treated rats, the AG did not change the hepatic IGF-I content, but it normalised serum IGF-I levels.

**Conclusions:** 1) NO does not mediate the decrease in the hepatic IGF-I in acute and chronic inflammation. 2) NO is involved in the mechanisms responsible for the decrease in serum IGF-I levels in acute inflammation.

**Key words:** NO, iNOS, arthritis, LPS, IGF-I.

Priego T, Ibáñez de Cáceres I, Martín A I, López-Calderón A, Villanúa M A  
Role of nitric oxide in hepatic IGF-I response to inflammation  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 20-27

**Fecha de recepción:** 14 de mayo de 2002

*El trabajo ha sido financiado por la Fundación Mapfre Medicina (2001) y por el FIS (00/0949)*

### INTRODUCCIÓN

El choque séptico y las enfermedades crónicas inflamatorias se acompañan de un balance de nitrógeno negativo y proteólisis (1). La pérdida de proteínas lleva aparejada disminución de músculo esquelético, aumento de la incidencia de infecciones y mala cicatrización de las heridas. Aunque la causa de estas alteraciones metabólicas es multifactorial (disminución del apetito y, por lo tanto, de la ingesta, inmovilización y la inflamación), las alteraciones del sistema endocrino desempeñan un papel importante, aunque todavía no bien conocido. La hormona de crecimiento (GH) que tiene importantes acciones anabólicas, actúa en los tejidos de dos modos, directamente y a través de la activación del factor de crecimiento similar a la insulina-I (IGF-I). En los niños con enfermedades inflamatorias y en los adultos con choque séptico se ha observado un descenso de los niveles séricos del IGF-I (2).

La artritis experimental inducida por la administración de adyuvante se utiliza como modelo animal para el estudio de la artritis reumatoide y del estrés inflamatorio crónico. En este modelo animal se produce una reducción drástica del peso corporal, a partir de los días 10-12 de la administración del adyuvante, días en los que comienzan a aparecer los síntomas inflamatorios y un desarrollo rápido de caquexia, junto con un descenso del IGF-I sérico y hepático (3). En los animales de experimentación, la administración del lipopolisacárido de *E. Coli* (LPS) o endotoxina inicia una serie de eventos similares a los causados por una infección por bacterias Gram positivas, desarrollándose toda la serie de reacciones en cascada de las citoquinas proinflamatorias que darán lugar a la inflamación (4). En la inflamación inducida por la administración de LPS están disminuidos los niveles circulantes de GH, así como las concentraciones séricas y hepáticas de IGF-I (5, 6).

El óxido nítrico (NO) interviene como mediador en múltiples eventos biológicos, de entre los que destaca su importancia en el desarrollo de procesos inflamatorios. El NO se genera mediante la acción de la óxido nítrico sintasa (NOS), enzima de la que existen tres formas. Dos de ellas, son formas constitutivas (cNOS) que se expresan normalmente en las células endoteliales y en las células nerviosas, y una de ellas, la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), se induce en los tejidos en respuesta a los estímulos inflamatorios. La in-

ducción de la iNOS en los tejidos puede conducir a la producción sostenida de altas concentraciones de NO, que puede ejercer efectos proinflamatorios como vasodilatación, edema y citotoxicidad, así como mediar en procesos dependientes de citoquinas (7). Se ha observado producción excesiva de NO en pacientes con sepsis, colitis ulcerosa, psoriasis, lupus eritematoso sistémico y artritis. Las fuentes potenciales de NO en estos procesos inflamatorios no están claras, pero parecen incluir el endotelio vascular, el músculo liso vascular, los hepatocitos, los macrófagos y los condrocitos, y la iNOS se ha detectado en cada uno de estos tipos celulares. El aumento en los niveles plasmáticos de NO que se produce en la inflamación es el resultado de la inducción de la iNOS, y no del incremento de las formas constitutivas de la NOS. Este hecho se ha demostrado al administrar LPS tras el bloqueo de la iNOS y observar que disminuyen los síntomas inflamatorios, mientras que, el bloqueo inespecífico de todas las formas de la NOS, aumenta el daño hepático y la mortalidad en el shock endotóxico (8).

Aunque en la inflamación existe un descenso de la secreción hipofisaria de GH, también puede producirse un efecto inhibitorio a nivel de los tejidos (9, 10). En el hígado, durante la inflamación, la iNOS se produce fundamentalmente en las células de Kupffer y en las endoteliales (11). A nivel hepático se ha observado también que las células de Kupffer son responsables del daño hepático que se produce en respuesta al LPS o al interferón gamma, efecto que se bloquea al inhibir la producción de óxido nítrico (12). Además, los compuestos nitrogenados derivados del NO contribuyen a modificar la función celular y repercuten negativamente sobre el crecimiento a través de diversos mecanismos. Uno de los posibles mecanismos es la nitrosilación de proteínas hepáticas que regulan el IGF-I. Datos recientes obtenidos tras la administración de LPS sugieren que la disminución del IGF-I está asociada con el desarrollo de citotoxicidad hepática, localizada en las regiones en que se ha producido nitrosilación de proteínas (13).

En el presente trabajo se pretende analizar si la inhibición selectiva de la óxido nítrico sintasa inducible es capaz de prevenir o mejorar la respuesta del IGF-I a la inflamación, inducida por la administración de LPS (modelo para estudiar el shock endotóxico) o de adyuvante (modelo experimental para el estudio de una enfermedad inflamatoria crónica como es la artritis reumatoide).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales y diseños experimentales

Utilizamos ratas macho de la raza Wistar, mantenidas en número de tres o cuatro animales por jaula, con acceso libre a la comida y bebida. Las condiciones de temperatura (20-22 °C) y luz (de 7,30 a 19,30 horas) fueron constantes y se siguió la normativa para el cuidado y manejo de animales de laboratorio recomendada por la Unión Europea.

*Experimento n.º 1: «Efecto de la inhibición específica de la óxido nítrico sintasa inducida (iNOS) sobre la respuesta del IGF-I sérico y hepático a la inflamación crónica (artritis experimental)»*

Los animales macho controles y artríticos de 40 días de edad, fueron suministrados por la casa Charles River (Barcelona, España). La artritis se indujo mediante una inyección intradérmica de adyuvante incompleto de Freund's con una suspensión de 1 mg de *Mycobacterium butyricum*, inactivado por calor, en la superficie plantar de la pata trasera derecha. Los animales controles se inyectaron con vehículo (aceite de parafina). Veinte días tras la inyección del adyuvante, los animales controles y artríticos se dividieron en dos grupos, uno al que se le administró 200 mg/kg sc de aminoguanidina hemisulfato (AG) (Alexis Corporation, Switzerland) y otro, al que se le administró sc 250 µL de tampón fosfato (PBS). Ambos tratamientos (AG y PBS) se realizaron entre los días 20 y 28 tras la administración del adyuvante o del vehículo.

Durante los ocho días de tratamiento se realizó un seguimiento diario del peso corporal y de la evolución de la enfermedad, para lo que se analizó el estado de cada una de las articulaciones, dando una puntuación a cada pata según el grado de inflamación: 0 = sin eritema ni inflamación, 1 = eritema cutáneo, 2 = inflamación moderada con eritema cutáneo, 3 = fuerte inflamación, 4 = inflamación muy severa con anquilosamiento. El índice de artritis es la suma de la puntuación de las cuatro patas, siendo el valor máximo 16. El día 28 tras la administración del adyuvante (día 8 de tratamiento), los animales se decapitaron 2,5 horas después de la última inyección de AG o PBS. Se recogió la sangre troncular en tubos de poliestireno, mantenidos en hielo, se dejó coagular durante cuatro horas a 4 °C, se centrifugó y a con-

tinuación se decantó el sobrenadante. El suero se mantuvo congelado a -20 °C hasta la valoración del IGF-I y de los niveles de nitritos y nitratos. Se recogió el hígado y se guardó una muestra de aproximadamente 100 mg a -20 °C para la determinación del contenido de IGF-I.

*Experimento n.º 2: «Efecto de la inhibición específica de la iNOS sobre la respuesta del IGF-I sérico y hepático a la inflamación aguda inducida por la inyección de LPS»*

Los animales macho de 40 días de edad fueron suministrados por la casa Charles River (Barcelona, España). Se administró AG (100 mg/kg ip) o PBS, y LPS (100 µg/kg ip) o salino, a las 16,00 horas y a las 8,30 horas del día siguiente (cuatro horas antes del sacrificio de las ratas). Tras la decapitación se extrajo la sangre troncular en tubos de poliestireno, mantenidos en hielo, se dejó coagular durante cuatro horas a 4 °C, se centrifugó durante 15 minutos a una f de 1.500 g, y a continuación se decantó el sobrenadante. El suero se mantuvo congelado a -20 °C hasta la valoración del IGF-I y de los niveles de nitritos y nitratos. Se recogió el hígado y se guardó una muestra de aproximadamente 100 mg a -20 °C para la determinación del contenido del IGF-I.

### Valoración de nitritos y nitratos

Previo a la valoración de los nitritos y nitratos, se redujo la turbidez del suero mediante la centrifugación de 300 µl del mismo, a través de unas membranas de ultrafiltración de Centrifree Micropartition Device (Amicon Division, Millipore Corporation, Bedford, EEUU) a 1.500 rpm y a 37 °C durante una hora. La concentración de nitritos y nitratos se midió por el método modificado de Griess (14), descrito por Miranda *et al.* (15). Se mezclaron 100 µl del suero filtrado con 100 µl de VCl<sub>3</sub> e inmediatamente se añadieron 100 µl del reactivo de Griess. La mezcla se incubó durante 30 minutos a 37 °C. Las muestras se leyeron en un lector de ELISA a una absorbancia de 540 nm. La concentración de nitritos y nitratos se calculó utilizando una curva patrón de NaNO<sub>2</sub>.

### Determinación del IGF-I sérico y hepático mediante radioinmunoanálisis (RIA)

El IGF-I sérico se separó de sus proteínas transportadoras (IGFBPs) por un método de extracción

con etanol ácido, valorándose sus concentraciones mediante un RIA de doble anticuerpo (6). El IGF-I hepático se extrajo por el método descrito por Torres Alemán *et al.* (16). Aproximadamente 100 mg de hígado se homogeneizaron en ácido acético 1 N. Posteriormente el extracto se hirvió durante 20 minutos, se centrifugó durante 15 minutos a una f de 1.500 g, y se liofilizó el sobrenadante.

El anticuerpo anti-IGF-I utilizado (UB2-495) fue suministrado gratuitamente por el programa de distribución de hormonas del NIDDK. Se utilizó como hormona patrón y para yodación el IGF-I humano (A52-EPD186), amablemente cedido por Eli Lilly Co. (Madrid, España). La sensibilidad del RIA fue de 10 pg/tubo, con unos coeficientes de variación intra e interanálisis del 5% y del 7%, respectivamente.

El contenido proteico de las muestras de hígado se determinó por el método del ácido bicinónico (BCA) (Pierce, Rockford, Illinois, EEUU).

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa STATGRAPHICS plus para Windows. Los datos se expresaron como la media ± SEM (error estándar de la media). Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial. Cuando el ANOVA indicó la existencia de interacción entre las variables, se realizó un ANOVA de una vía seguido del test de Duncan para una comparación múltiple de las medias. La significación estadística se estableció a partir de  $p < 0,05$ .

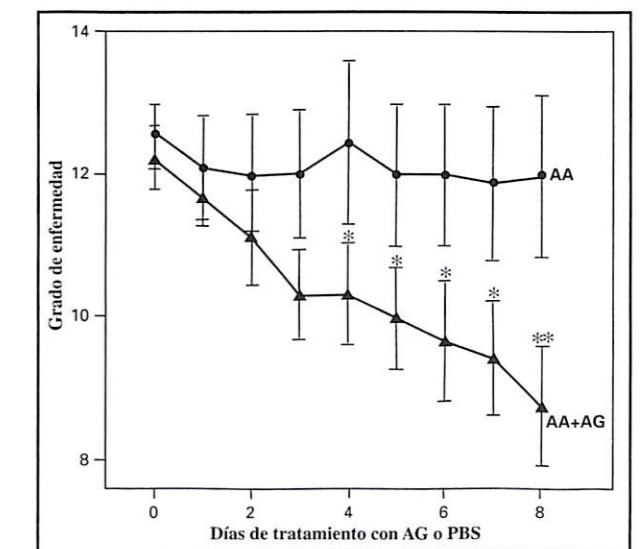
## RESULTADOS

Al analizar la evolución de la enfermedad de las ratas artríticas a lo largo de los ocho días de

tratamiento con AG (Figura 1) se observa que su administración mejora el grado de enfermedad desde el cuarto día de tratamiento, evidenciándose el mayor efecto en el día 8 ( $p < 0,01$ ). El análisis estadístico se realizó mediante un ANOVA de dos vías.

En la Tabla I se muestra la evolución del peso corporal durante los ocho días de tratamiento, observándose que la administración de AG no la modificó ni en las ratas artríticas ni en los controles. El análisis estadístico se realizó mediante un ANOVA de dos vías.

Como puede observarse en la Figura 2, tanto en las ratas artríticas (AA) (panel superior) como en las tratadas con LPS (parte inferior), los niveles séricos de nitritos y nitratos están elevados en re-

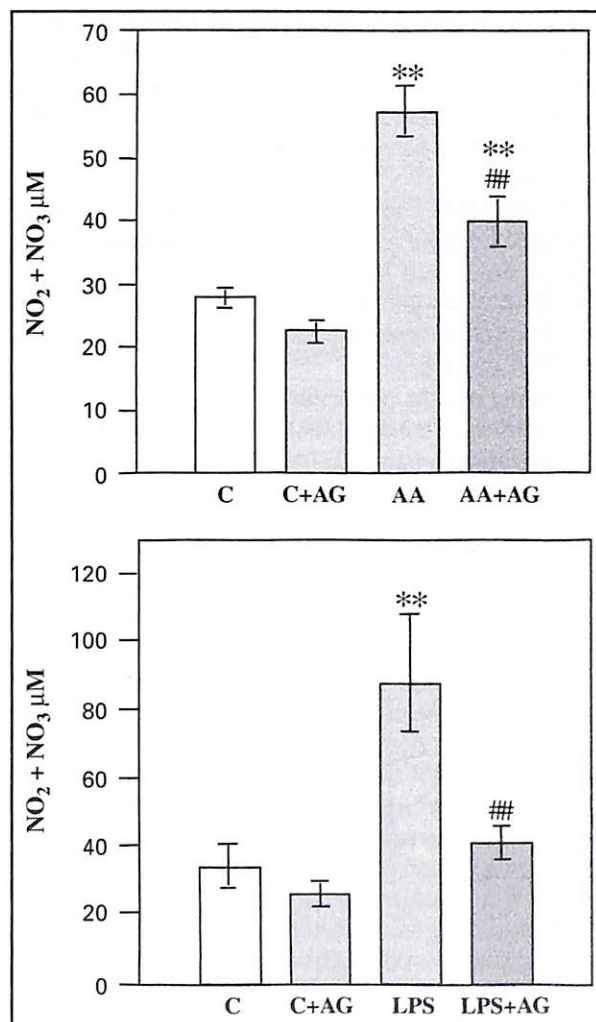


**Figura 1.** Evolución de la enfermedad en ratas artríticas tratadas con PBS (AA) o con aminoguanidina (AG) (200 mg/kg/sc) durante ocho días, desde el día 20 al 28 tras la administración del adyuvante. Los datos se expresan como la media ± sem de diez animales en cada grupo. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  vs grupo AA.

**TABLA I.** Evolución del peso corporal (g)

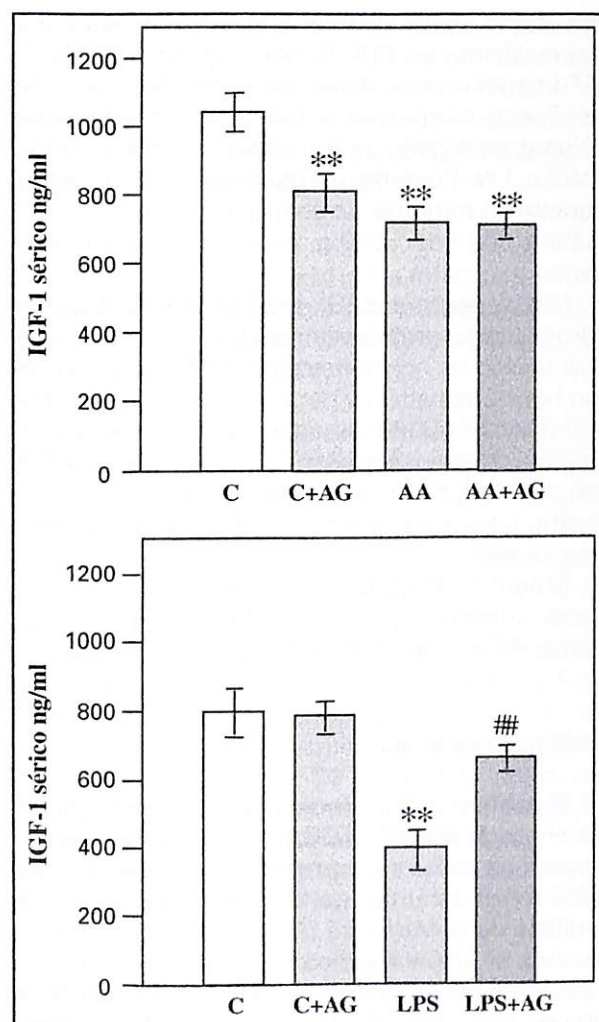
	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
C	218 ± 2,5	222 ± 3,3	236 ± 3,3	251 ± 3,6	262 ± 4,0
C+AG	222 ± 5,4	226 ± 5,6	236 ± 5,5	246 ± 5,6	258 ± 6,7
AA	158 ± 3,8	161 ± 3,9	167 ± 4,2	169 ± 4,9	175 ± 5,1
	**	**	**	**	**
AA+AG	155 ± 4,9	158 ± 5,1	164 ± 5,7	168 ± 6,5	173 ± 7,4

Efecto de la administración de aminoguanidina (AG) (200 mg/kg) durante ocho días a ratas controles (C) y artríticas (AA) sobre el peso corporal. Los datos están expresados como la media ± error estándar de la media de diez animales por grupo. \*\*  $p < 0,01$  versus grupo control. ANOVA multifactorial.



**Figura 2.** Niveles séricos de nitritos y nitratos (µM) en ratas artríticas (AA) o controles (C) tratadas con PBS o aminoguanidina (AG) (200 mg/kg/ sc) durante ocho días, desde el día 20 al 28, tras la administración del adyuvante. Los animales se sacrificaron 2,5 horas tras la última inyección de AG o PBS (figura superior). Figura inferior: ratas inyectadas con LPS (100 µg/kg/ip) (LPS) o salino (C) y aminoguanidina (AG) (100 mg/kg/ip) o PBS, a las 16 horas y a las 8,30 horas del día siguiente (cuatro horas antes del sacrificio). Los datos se expresan como la media ± sem de diez animales en cada grupo.  
\*\*  $p < 0,01$  vs el grupo control (C), ##  $p < 0,01$  vs grupo AA o LPS.

lación con los que presentan las ratas controles (C). El tratamiento con el inhibidor de la iNOS, la AG, disminuyó significativamente los niveles séricos de nitratos y nitritos tanto en las ratas con inflamación crónica (AA + AG vs AA) (parte superior) como en las ratas con inflamación aguda (LPS + AG vs LPS) (panel inferior) ( $p < 0,01$  en ambos casos). Sin embargo, en las ratas tratadas con LPS la AG restableció los niveles de nitritos hasta alcanzar el valor de los animales control, mientras



**Figura 3.** Niveles séricos de IGF-I (ng/ml) en, figura superior: ratas artríticas (AA) o controles (C) tratadas con PBS o aminoguanidina (AG) (200 mg/kg/sc) durante ocho días, desde el día 20 al 28, tras la administración del adyuvante. Los animales se sacrificaron 2,5 horas tras la última inyección de AG o PBS. Figura inferior: ratas inyectadas con LPS (100 µg/kg/ip) (LPS) o salino (C) y aminoguanidina (AG) (100 mg/kg/ip) o PBS, a las 16 horas y a las 8,30 horas del día siguiente (cuatro horas antes del sacrificio). Los datos se expresan como la media ± sem de diez animales en cada grupo.  
\*\*  $p < 0,01$  vs el grupo control (C), ##  $p < 0,01$  vs grupo LPS.

que en las ratas artríticas el efecto fue parcial (Figura 2). El análisis estadístico se realizó mediante un ANOVA de dos vías, seguido del test de Duncan.

Tanto los animales artríticos (Figura 3, parte superior), como los animales tratados con LPS (Figura 3, parte inferior) muestran una marcada disminución en los niveles séricos de IGF-I respecto a los animales controles ( $p < 0,01$  en ambos casos), descenso que no se modificó tras el trata-

miento con AG en las ratas artríticas (figura superior). Sin embargo, en las ratas tratadas con LPS, la administración de AG restableció los niveles séricos de IGF-I. En las ratas control (C), la administración aguda de AG no modificó los niveles séricos de IGF-I (figura inferior), pero la administración crónica los disminuyó significativamente ( $p < 0,01$ , Figura 3, parte superior). ANOVA de dos vías, seguido del test de Duncan.

Cuando se midió el contenido hepático del IGF-I (Figura 4) se observó un descenso del mis-

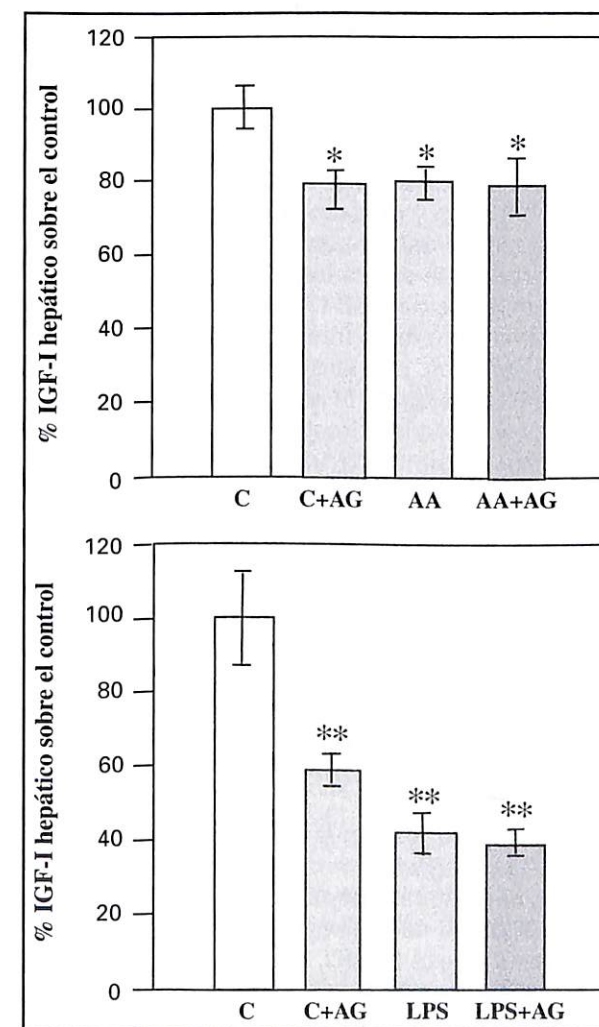
mo, tanto en los animales artríticos ( $p < 0,05$ ) como en los tratados con LPS ( $p < 0,01$ ) en relación al contenido que presentan los animales controles (paneles superior e inferior, respectivamente). Este descenso no se modificó tras la administración crónica o aguda de la AG. Sin embargo, en los animales controles la administración de este fármaco produjo un descenso en los niveles hepáticos de IGF-I (Figura 4). ANOVA de dos vías, seguido del test de Duncan.

## DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio sugieren que el óxido nítrico no participa en el descenso del IGF-I hepático que se produce en la artritis experimental y en la sepsis. Sin embargo, el óxido nítrico si parece estar implicado en el descenso en los niveles séricos de IGF-I que se observa en la inflamación aguda.

Los niveles séricos de nitritos y nitratos que se encuentran elevados tanto en la situación de inflamación crónica (artritis inducida por la administración de adyuvante) como aguda (administración de LPS) mejoran tras la administración de la AG, mientras que en los animales controles no produce ningún efecto. Estos datos están de acuerdo con los descritos por diversos autores, al utilizar tanto la AG (17-19) como otros inhibidores de la iNOS, por ejemplo, el L-NIL (N-iminoetil-L-lisina) (18, 20, 21) para inhibir la producción de NO en ratas artríticas y en ratas tratadas con LPS.

La implicación del NO en los procesos inflamatorios se corrobora en este estudio, ya que el tratamiento con la AG disminuyó de forma significativa el grado de enfermedad en las ratas artríticas a partir del cuarto día de su administración. Esta observación ya había sido realizada también por otros autores al describir una reducción en el volumen de las patas de ratas artríticas tras el tratamiento con el inhibidor L-NIL (18) o con la AG (17, 18). En el presente estudio la disminución en los niveles plasmáticos de nitritos y nitratos encontrado en las ratas artríticas tras ocho días de tratamiento con AG (desde el día 20 tras la administración del adyuvante hasta el día 28), se correlaciona con una disminución importante en el grado de enfermedad, como se ha observado previamente tras la administración de AG (17, 18) o de L-NIL (18). Sin embargo, no todos los autores encuentran una correlación entre los niveles de nitritos y nitratos y el grado de enfermedad, tras la administración tanto del L-NIL (20) como de la AG (22).



**Figura 4.** Efecto del tratamiento con aminoguanidina (AG) (200 mg/kg/sc) o PBS durante ocho días a ratas artríticas (AA) (figura superior), o con AG (100 mg/kg/ip) a las 16 horas y a las 8,30 horas del día siguiente, en ratas inyectadas a las mismas horas con LPS (100 µg/kg/ip) o salino (figura inferior), sobre el contenido hepático de IGF-I (mg/proteína) expresado como porcentaje sobre el valor de las ratas control. Los datos se expresan como la media ± sem de diez animales en cada grupo.  
\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  vs el grupo control (C).

Del presente estudio se desprende que la administración terapéutica del inhibidor de la iNOS es efectiva mejorando los síntomas inflamatorios cuando la enfermedad ya está instaurada. Sin embargo, los datos de la literatura son contradictorios a este respecto. Hay estudios que sugieren que al aumento de la síntesis de NO, vía la inducción de la iNOS, puede estar parcialmente implicada en la patogénesis de la artritis inducida por la administración de adyuvante y, por lo tanto, la inhibición selectiva de la iNOS puede ser beneficioso para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias. En este sentido, Tanaka *et al.* (17) encuentran una reducción del 50% en la inflamación de las patas de las ratas artríticas tras el tratamiento con AG durante 18 días, a la misma dosis (200 mg/kg) y vía de administración (sc) empleadas en este estudio, comenzando desde el día en que se administra el adyuvante. Sin embargo, otros autores (23) no encuentran mejoría en el grado de inflamación de las patas, ni al administrar AG desde el momento de la administración del adyuvante, ni al administrarla a partir del día 12. Las diferencias entre estos resultados y los descritos por Tanaka *et al.* y los del presente trabajo, pueden deberse a que el tratamiento con AG se realizó sólo durante cuatro días, tanto al administrarlo profiláctico como terapéuticamente, y a la dosis de 100 mg/kg por vía ip. Además, otros autores (22) encuentran que el tratamiento con AG a ratas artríticas, a la dosis de 500 mg/kg dos veces al día y por vía oral, entre los días 21 y 28 tras la administración del adyuvante, disminuye la excreción urinaria de nitritos y nitratos sin mejorar el grado de enfermedad. Las diferencias con nuestros resultados pueden deberse a la dosis utilizada y a la vía de administración.

Los resultados contradictorios en relación a la inhibición de la iNOS y la disminución en el grado de enfermedad se han observado no sólo tras la administración de AG, sino también con otros inhibidores. Hay autores (20) que no encuentran una mejoría en la inflamación de las patas de las ratas artríticas al administrar L-NIL terapéuticamente, pero sí fue efectivo al administrarlo de modo profiláctico. Sin embargo, muy recientemente (21) se ha observado que el L-NIL no disminuye la respuesta inflamatoria aguda y además empeora la crónica.

El hecho de que la administración de AG disminuya los niveles séricos de nitritos en las ratas artríticas y que los restablezca en las ratas tratadas con LPS sugiere que en la inflamación crónica el aumento en la producción de NO se debe no sólo a un aumento de la iNOS sino también al aumento de las NOS constitutivas. Pozza *et al.* (24)

administrando un inhibidor selectivo de la NOS neuronal a ratas artríticas encuentran una disminución en el grado de inflamación, y concluyen que la NO neuronal está implicada en el desarrollo y mantenimiento de la artritis.

El contenido hepático de IGF-I no se modifica tras la administración de AG, ni en las ratas tratadas con LPS ni en las artríticas. Sin embargo, tras la inhibición de la iNOS, en las ratas artríticas tampoco se modifican los niveles circulantes de IGF-I, pero se restablecen en las ratas tratadas con LPS. Las diferencias encontradas tras el tratamiento con AG en el contenido hepático y en los niveles séricos de IGF-I en la inflamación aguda puede deberse a una alteración en los niveles séricos de las proteínas que transportan el IGF-I, las IGFBPs. De ellas, la predominante y, por lo tanto, la que condiciona en mayor medida las acciones biológicas del IGF-I, es la IGFBP-3 que se produce en las células de Kupffer hepáticas. Se sabe, que a nivel hepático y durante la inflamación, la iNOS se produce fundamentalmente en este tipo celular (11) más que en los hepatocitos, que es el lugar de síntesis del IGF-I. Los derivados del NO producirían un efecto inhibitorio sobre los macrófagos hepáticos, por lo que al inhibir la producción de NO mediante la administración de AG, la síntesis y los niveles circulantes de IGFBP-3 incrementarían. El aumento en los niveles circulantes de la IGFBP-3 serían responsables del aumento de los niveles séricos del IGF-I en la inflamación aguda tras el tratamiento con la AG.

En la inflamación crónica, los niveles circulantes de la IGFBP-3 también estarían aumentados tras la inhibición de la iNOS; sin embargo, al estar inhibida de forma crónica la producción de IGF-I hepático como se refleja en la disminución de su contenido, el aumento de la IGFBP-3 no se acompañaría de un aumento en los niveles circulantes de IGF-I.

El hecho de que en las ratas control, el tratamiento tanto agudo como crónico con la AG disminuya el contenido hepático de IGF-I indica que, en condiciones normales, la iNOS contribuye a la producción basal de NO, y que este gas interviene en la regulación de la función de los hepatocitos. Las concentraciones séricas de IGF-I se encuentran disminuidas, al igual que sus concentraciones hepáticas, en las ratas control tratadas crónicamente con AG. Sin embargo, en las ratas control, el tratamiento agudo con AG no produjo modificaciones en los niveles circulantes del IGF-I, posiblemente debido al aumento en la producción hepática de la IGFBP-3.

Ya que la alteración del sistema IGF-I está implicado en las alteraciones orgánicas que se pro-

ducen en la inflamación, estos resultados sugieren que el aumento de las concentraciones séricas del IGF-I puede contribuir a los efectos beneficiosos del tratamiento con inhibidores de la iNOS en la sepsis.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen a A. Carmona su ayuda técnica. Este trabajo ha sido posible gracias a las ayudas de la Fundación MAPFRE Medicina (2001) y del FIS (00/0949), así como a la beca concedida a I. Ibáñez de Cáceres (BEFI, 99/9020)

#### BIBLIOGRAFÍA

1. VOERMAN H J, VAN SCHIJNDEL R J, GROENEVELD A B, DE BOER H, NAUTA J P, VAN DER VEEN E A, THIJSS L G. Effects of recombinant human growth hormone in patients with severe sepsis. *Ann Surgery*. 1992; 216: 648-655.
2. DAVIES U M, JONES J, REEVE J, CAMACHO-HUBNER C, CHARLETT A, ANSELL B M, PREECE M A, WOO P M M. Juvenile rheumatoid arthritis. Effects of disease activity and recombinant human growth hormone on insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor binding proteins 1 and 3, and osteocalcin. Involvement of nitric oxide in the interferon-gamma-induced inhibition of growth hormone and prolactin secretion in anterior pituitary cell cultures. *Arthritis Rheum*. 1997; 40: 332-340.
3. LÓPEZ-CALDERÓN A, SOTO L, MARTÍN, A I. Chronic inflammation inhibits GH secretion and alters the serum insulin-like growth factor system in rats. *Life Sci*. 1999; 65:2049-2060.
4. KARIMA R, MATSUMOTO S, HIGASHI H, MATSUSHIMA K. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure. *Molecular Medicine Today*. 1999; 5: 123-132.
5. PRIEGO T. Efecto de la administración del LPS sobre el eje GH-IGF-I: papel de los glucocorticoides. Tesis de Licenciatura. Madrid: Universidad Complutense, 2000.
6. SOTO L, MARTÍN A I, MILLAN S, VARA E, LÓPEZ-CALDERÓN A. Effects of endotoxin lipopolysaccharide administration on the somatotrophic axis. *J Endocrinol*. 1998; 159: 239-246.
7. GLANCY R, ABRAMSON S. Nitric oxide: a novel mediator of inflammations. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1995; 216: 93-101.
8. LIAUDET L, ROSSELET A, SCALLER M D, MARKET M, PERRET C, FEIHL F. Nonselective versus selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental endotoxic shock. *J Infect Dis*. 1998; 177: 127-132.
9. LÓPEZ-CALDERÓN A, IBÁÑEZ DE CÁCERES I, SOTO L, PRIEGO T, MARTÍN A I, VILLANUA M A. The decrease in hepatic IGF-I gene expression in arthritic rats is not associated with modifications in hepatic GH receptor mRNA. *Eur J Endocrinol*. 2001; 144: 1-6.
10. WOLF M, BÖHM S, BRAND M, KREYMANN G. Proinflammatory cytokines interleukin 1 $\beta$  and tumor necrosis factor  $\alpha$  inhibit growth hormone stimulation of insulin-like growth factor I synthesis and growth hormone stimulation of insulin-like growth hormone receptor mRNA levels in cultured rat liver cells. *Eur J Endocrinol*. 1996; 135: 729-737.
11. AONO K, ISOBE K, KIUCHI K, FAN Z H, ITO M, TAKEUCHI A, MIYACHI M, NAKASHIMA I, NIMURA Y. In vitro and in vivo expression of inducible nitric oxide synthase during experimental endotoxemia: involvement of other cytokines. *J Cell Biochem*. 1997; 65: 349-358.
12. GRIFFON B, CILLARD J, CHEVANNE M, MOREL I, CILLARD P, SERGENT O. Macrophage-induced inhibition of nitric oxide production in primary rat hepatocyte cultures via prostaglandin E2 release. *Hepatology*. 1998; 28: 1300-1308.
13. ELSASSER T H, KAHL S, RUMSEY T S, BLUM J W. Modulation of growth performance in disease: reactive nitrogen compounds and their impact on cell proteins. *Dom Anim Endocrinol*. 2000; 19: 75-84.
14. GREEN L C, WAGNER D A, GLOGOWSKI J, SKIPPER P L, WISHNOK J S, TANNENBAUM S R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 1982; 126: 131-138.
15. MIRANDA K M, ESPEY M G, WINK D A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*. 2001; 5: 62-71.
16. TORRES-ALEMAN I, PONS S, SANTOS-BENITO F F. Survival of purkinje cells in cerebellar cultures is increased by insulin-growth factor I. *Eur J Neurosci*. 1992; 4: 864-869.
17. TANAKA S, MATSUI T, MURAKAMI T, ISHIZUKA T, SUGIURA M, KAWASHIMA K, et al. Immunological abnormality associated with the augmented nitric oxide synthesis in adjuvant-induced arthritis. *Int J Immunopharmacol*. 1998; 20: 71-84.
18. CONNOR J R, MANNING P T, SETTLE S L, MOORE W M, JEROME G M, WEBBER R K, et al. Suppression of adjuvant-induced arthritis by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol*. 1995; 273: 15-24.
19. RUETTEN H, THIEMERMANN C. Prevention of the expression of inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine or aminoethyl-isothiourea in macrophages and in the rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 225: 525-530.
20. FLETCHER D S, WIDMER W R, LUELL S, CHRISTEN A, OREVILLO C, SHAH S, et al. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats. *J Pharmacol Exp Therap*. 1998; 28: 4714-4721.
21. MCCARTNEY-FRANCIS N L, SONG X, MIZEL D E, WAHL S M. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase exacerbates erosive joint disease. *J Immunol*. 2001; 166: 2734-2740.
22. STEFANOVIC-RACIC M, MEYERS K, MESCHTER C, COFFEY J W, HOFFMAN R A, EVANS C H. Comparison of the nitric oxide synthase inhibitors methylarginine and aminoguanidine as prophylactic and therapeutic agents in rat adjuvant arthritis. *J Rheumatol*. 1995; 22:1922-1928.
23. GAD M Z, KHATTAB M. Modulation of nitric oxide synthesis in inflammation. Relationship to oxygen-derived free radicals and prostaglandin synthesis. *Arzneim-Forsch Drug Res*. 2000; 50: 449-455.
24. POZZA M, BETTELLI C, MAGNANI F, MASCIA M T, MANZINI E, CALZÀ L. Is neuronal nitric oxide involved in adjuvant-induced joint inflammation? *Eur J Pharmacol*. 1998; 359: 87-93.

# Gestación y trabajo: protocolización de la asistencia a la trabajadora embarazada en Salud Laboral. I. Revisión de los fundamentos legales y técnicos relativos a los agentes de riesgo para la reproducción humana

## *Pregnancy and work: occupational health procedure for pregnant women at work. I. Review of legal framework and technical knowledge related to risk agents for human reproduction*

<sup>1</sup> Departamento de Prevención  
Opel España, S.L.

<sup>2</sup> Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria

<sup>3</sup> Instituto de Ergonomía MAPFRE, S.A.

<sup>4</sup> Escuela Profesional de Medicina del Trabajo  
Zaragoza

Bascuas Hernández J. <sup>1</sup>

Alcalde Lapiedra V. <sup>1</sup>

Rodrigo de Francia A. <sup>2</sup>

Álvarez Zárate J. M. <sup>3</sup>

Cegoñino de Sus M. <sup>1</sup>

Gil Falcón A. <sup>4</sup>

### RESUMEN

La protección de la mujer embarazada debe entenderse como una aplicación concreta del contenido de la vigilancia específica de la salud de los trabajadores. Se trata de asegurar que los riesgos asociados a una determinada actividad laboral no van a afectar negativamente a la salud de la embarazada, del feto o del recién nacido, y que no van a interferir en el período de lactancia. Esto sólo puede llevarse a cabo mediante el desarrollo y aplicación de unos procedimientos específicos orientados a la investigación de las condiciones de trabajo y de la situación médica de la trabajadora.

El objetivo de esta publicación es, por una parte, realizar una puesta al día de los aspectos legales y técnicos relacionados con los agentes de riesgo para la reproducción humana y, por otra, presentar una forma de proceder en la que hemos pretendido reunir todos aquellos aspectos que, basados en lo anterior, se consideran fundamentales para asegurar la protección de las trabajadoras que se encuentran en período de gestación. Se trata pues, de analizar sistemática y conjuntamente una serie de parámetros para poder llegar a decidir con criterio y desde un punto de vista práctico, si una trabajadora embarazada puede o no realizar una determinada actividad laboral.

**Palabras clave:** Medicina del trabajo, reubicación, vigilancia de la salud, gestación, reproducción humana, factores de riesgo, trabajador especialmente sensible.

Bascuas Hernández J, Alcalde Lapiedra V, Rodrigo de Francia A, Álvarez Zárate J M, Cegoñino de Sus M, Gil Falcón A  
Gestación y trabajo: protocolización de la asistencia a la trabajadora embarazada en Salud Laboral. I. Revisión de los fundamentos legales y técnicos relativos a los agentes de riesgo para la reproducción humana  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 28-43

### Correspondencia:

J. Bascuas Hernández  
Departamento de Prevención  
Opel España de Automóviles, S.L.  
Apdo. de Correos 375  
50080 Zaragoza

### ABSTRACT

The safety of a pregnant woman must be understood as a concrete application of the specific vigilance of workers' Health. It is a question of assuring that the risks associated with a particular work activity will not affect negatively the health of a pregnant woman, nor that of the fetus nor the newborn, and that it will not interfere with the period of breast feeding. This can only take place through the development and the application of specific procedures geared towards the research of working conditions as well as the medical state of the female worker.

The purpose of this publication is, on one hand, to update the legal and technical aspects related with risks in human reproduction and, on the other hand, to present a course of action in which we have tried to gather all those aspects that, based on the previous, are considered basic to ensure the safety of pregnant women. It is a question then, of analyzing systematically and jointly a serie of parameters to be able to decide, with criteria and from a practical view point, whether a female worker can or cannot perform a particular work activity.

**Key words:** Occupational health, restricted worker placement, health care, pregnancy, human reproduction, occupational risk factors, restricted worker.

Bascuas Hernández J, Alcalde Lapiedra V, Rodrigo de Francia A, Álvarez Zárate J M, Cegoñino de Sus M, Gil Falcón A  
Pregnancy and work: occupational health procedure for pregnant women at work. I. Review of legal framework and technical knowledge related to risk agents for human reproduction  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 28-43

**Fecha de recepción:** 15 de noviembre de 2002

### INTRODUCCIÓN

El embarazo no es una enfermedad, sino un aspecto más en la vida de una mujer que en muchos casos, debe compaginar con su vida laboral. Es aquí donde, en ocasiones, pueden surgir ciertos inconvenientes tanto para ella como para el futuro hijo en el caso que algunos de los riesgos existentes en el trabajo afecten a su salud y seguridad. A este respecto, hay que tener en cuenta además que unas condiciones de trabajo que podrían considerarse aceptables en situación normal, pueden dejar de serlo durante el embarazo y la lactancia.

Es necesario, por lo tanto, asumir que el embarazo está intrínsecamente ligado al concepto de riesgo ya que transforma a la gestante en una trabajadora «especialmente sensible». Este hecho viene reconocido, desde el punto de vista legal: «...a este respecto se considera que la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o se encuentre todavía en período de lactancia, constituye un grupo de alto riesgo, por lo que han de tomarse medidas relativas a su salud y seguridad» (art. 15 de la Directiva Marco 89/391/CEE de 12 de junio de 1989). Esta declaración va a significar, desde el punto de vista práctico, la necesidad de manejar diferentes conceptos y aplicar una serie de procedimientos que aseguren, de alguna manera, que nuestra actuación ante una trabajadora embarazada es la correcta dentro del ámbito preventivo en salud laboral.

Por ello y antes de continuar, creemos necesario recordar algunos conceptos referentes al tema que nos ocupa.

### DEFINICIONES Y CONCEPTOS

Según se recoge en el artículo 2 de la Directiva 92/85/CEE relativa a la aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia, se considera;

**a) Trabajadora embarazada:** cualquier trabajadora embarazada que comunique su estado al empresario, con arreglo a las legislaciones y/o prácticas nacionales.

**b) Trabajadora que ha dado a luz:** cualquier trabajadora que haya dado a luz en el sentido de las legislaciones y/o prácticas nacionales, que comunique su estado al empresario, con arreglo a dichas legislaciones y/o prácticas nacionales.

**c) Trabajadora en período de lactancia:** cualquier trabajadora en período de lactancia en el sentido de las legislaciones y/o prácticas nacionales, que comunique su estado al empresario, con arreglo a dichas legislaciones y/o prácticas nacionales.

**Peligro:** propiedad o aptitud intrínseca de algo (materiales de trabajo, equipos, métodos, prácticas laborales, etc.) que puede ocasionar daños (1).

**Riesgo:** probabilidad de que la capacidad para ocasionar daños se actualice en las condiciones de utilización o de exposición y la posible importancia de los daños (1).

**Evaluación de riesgos:** proceso mediante el cual se obtiene la información necesaria para que la organización esté en condiciones de adoptar acciones preventivas y en tal caso, sobre el tipo de acciones que deben adoptar (2).

### ASPECTOS LEGALES

La incuestionable «función social» de la maternidad la ha hecho merecedora de tutela en prácticamente todos los ordenamientos jurídicos (3). Asimismo, la protección de la maternidad ha encontrado amplio eco en numerosos textos internacionales. El artículo 25.2 de la Declaración Universal de los Derechos Humanos informa que «la maternidad y la infancia tienen derecho a cuidados y asistencias especiales». El artículo 10.2 del Pacto Internacional de Derechos Económicos, Sociales y Culturales de 1966 declara: «se debe conceder especial protección a las mujeres durante un período de tiempo razonable antes y después del parto. Durante dicho período, a las madres que trabajen se les deberá conceder licencia con remuneración o con prestaciones adecuadas de seguridad social». Por su parte, la Carta Social Europea (Turín, 1961) sanciona que «las trabajadoras, en caso de maternidad, y las demás trabajadoras en los casos precedentes, tienen derecho a una protección especial en su trabajo». Cabe destacar muy especialmente dos instrumentos normativos internacionales: el Convenio número 103 de la OIT (revisado en 1952) relativo a la protección de la maternidad, y la Directiva del Consejo 92/85/CEE de 19 de octubre de 1992, relativa a la aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia. Concretamente y tal y como expresa Cavas Martínez citando a Pérez del

Río (3), «la normativa dirigida a la protección de la maternidad, que por razones biológicas obvias toma a la mujer como sujeto exclusivo, se justifica desde la óptica del principio de igualdad, de un lado en la especial situación del sujeto contemplado por la norma, y de otro en las circunstancias objetivas del supuesto regulable: la maternidad constituye función social protegible como tal por el ordenamiento y la trabajadora embarazada se encuentra en un momento de especial sensibilidad y peligro para la salud».

Sin perjuicio de las disposiciones normativas relativas a aspectos antidiscriminatorios del trabajo femenino, se han promulgado otras orientadas a la protección de la salud e integridad física de la embarazada y de la mujer en período de lactancia. En este sentido, la OIT ha regulado la adopción, entre otras, de las siguientes prohibiciones relativas a la ocupación de mujeres embarazadas o que hubieran dado a luz en actividades que comportan riesgo para sus salud o seguridad:

— Las mujeres no pueden trabajar en la reducción, manipulación, etc., con cinc y plomo (Recomendación número 4, 1919).

— La mujer embarazada o lactante no debe ser empleada en trabajos que impliquen contacto con benceno (Convenio número 136, 1971).

— Limitación del transporte manual de carga (Convenio número 127, 1967).

— Prohibición durante el embarazo y las diez semanas siguientes al parto al transporte manual de carga, si a juicio del médico puede comprometer la salud de la madre o del hijo (Recomendación número 128, 1967).

— Prohibición a las mujeres embarazadas o lactantes del trabajo nocturno y horas extraordinarias, así como los trabajos que impliquen levantar o empujar grandes pesos, que exijan un esfuerzo físico excesivo, un equilibrio especial, o la utilización de máquinas de trepidación. En caso de estar empleada habitualmente en un trabajo considerado peligroso, o cuando por razones de preservación de la salud de la madre y/o del feto el médico así lo certifique, la mujer deberá tener derecho a ser transferida, sin reducción de salario, a otro trabajo que no sea perjudicial para su estado (Recomendación número 95, 1952).

Por su parte, la Comunidad Europea, a través de la Directiva 92/85/CEE, se ha propuesto prevenir y mejorar la seguridad y salud en el trabajo de la mujer embarazada, que haya dado a luz o se encuentre en período de lactancia, tal y como se refleja en diferentes artículos:

#### Artículo 4. Evaluación e información

1. Para cualquier actividad que pueda presentar un riesgo específico de exposición a alguno de los agentes, procedimientos o condiciones de trabajo, cuya lista no exhaustiva figura en el Anexo I, el empresario, directamente o por medio de los servicios de protección y prevención, deberá determinar la naturaleza, el grado y la duración de la exposición en las empresas o el establecimiento de que se trate, de las trabajadoras a que hacen referencia las letras *a)*, *b)* y *c)* (ver «Definiciones y conceptos») de la introducción, para poder:

— apreciar cualquier riesgo para la seguridad o la salud, así como cualquier repercusión sobre el embarazo o la lactancia de las trabajadoras;

— determinar las medidas que deben adoptarse.

2. Se comunicará a todas las trabajadoras que puedan encontrarse en una de las situaciones citadas en las letras *a)*, *b)* o *c)* de la introducción, y/o a sus representantes, los resultados de la evaluación de los agentes químicos, físicos y biológicos que pueden suponer riesgo para estas trabajadoras y todas las medidas relativas a la seguridad y salud en el trabajo.

#### Artículo 5. Consecuencias de los resultados de la evaluación

1. Si los resultados de la evaluación mencionada revelan un riesgo para la seguridad o la salud, así como alguna repercusión en el embarazo o la lactancia de una trabajadora a que se refieren las letras *a)*, *b)* o *c)*, se tomarán las medidas necesarias para evitar, mediante una adaptación provisional de las condiciones de trabajo y/o del tiempo de trabajo de la trabajadora afecta, que esta trabajadora se vea expuesta a dicho riesgo.

2. Si la adaptación de las condiciones de trabajo y/o del tiempo de trabajo no resultaran técnica y/u objetivamente posibles o no pueden razonablemente exigirse por motivos debidamente justificados, se garantizará un cambio de puesto de trabajo a la trabajadora afecta.

#### Artículo 6. Prohibiciones de exposición

1. La trabajadora embarazada a que se refiere la letra *a)* no podrá verse obligada, en ningún caso, a realizar las actividades que de acuerdo con la evaluación supongan el riesgo de una exposición a los agentes y condiciones de trabajo enumerados en el Anexo II, sección A.

2. La trabajadora en período de lactancia a que se refiere la letra *c)* no podrá verse obligada, en ningún caso, a realizar las actividades que de acuerdo con la evaluación supongan el riesgo de una exposición a los agentes y condiciones de trabajo enumerados en el Anexo II, sección B.

#### Artículo 7. Trabajo nocturno

Las trabajadoras a que se refiere en las letras *a)*, *b)* y *c)* no se verán obligadas a realizar un trabajo nocturno durante el embarazo o durante un período consecutivo al parto, que será determinado por la autoridad nacional competente en materia de seguridad y salud, a reserva de la pre-

sentación, según las modalidades fijadas por los Estados miembros, de un certificado médico que dé fe de la necesidad para la seguridad o la salud de la trabajadora afectada.

Con arreglo a las legislaciones y/o prácticas nacionales, estas medidas deberán incluir la posibilidad:

— del traslado a un trabajo diurno, o

— de una dispensa de trabajo, o de una prolongación del permiso de maternidad cuando dicho traslado no sea técnica y/u objetivamente posible o no pueda razonablemente exigirse por motivos debidamente justificados.

Por último, la Ley 31/1995 de Prevención de Riesgos Laborales (LPRL), en su artículo 26, seña-

#### ANEXO I

##### LISTA NO EXHAUSTIVA DE AGENTES, PROCEDIMIENTOS Y CONDICIONES DE TRABAJO (Tomada de Directiva 92/85/CEE de 19 de octubre de 1992)

#### A. Agentes

1. *Agentes físicos*, cuando se considere que puedan implicar lesiones fetales y/o provocar un desprendimiento de placenta, en particular:

- Choques, vibraciones o movimientos.
- Manutención manual de cargas pesadas que supongan riesgos, en particular dorsolumbares.
- Ruido.
- Radiaciones ionizantes.
- Radiaciones no ionizantes.
- Frío y calor extremos.
- Movimientos y posturas, desplazamientos (tanto en el interior como en el exterior del establecimiento), fatiga mental y física y otras cargas físicas vinculadas a la actividad de la trabajadora a que se refiere el artículo 2.

2. *Agentes biológicos*

Agentes biológicos de los grupos de riesgo 2, 3 y 4 en el sentido de los números 2, 3 y 4 de la letra del artículo 2 de la Directiva 90/679/CEE, en la medida en que se sepa que dichos agentes o las medidas terapéuticas que necesariamente traen consigo ponen en peligro la salud de las mujeres embarazadas y del niño aún no nacido, y siempre que no figuren todavía en el Anexo II.

3. *Agentes químicos*

Los siguientes agentes químicos, en la medida en que se sepa que ponen en peligro la salud de las mujeres embarazadas y del niño aún no nacido, y siempre que no figuren todavía en el Anexo II.

- Las sustancias etiquetadas R-40, R-45, R-46 y R-47 por la Directiva 67/548/CEE, en la medida en que no figuren todavía en el Anexo II.
- Los agentes químicos que figuran en el Anexo I de la Directiva 90/349/CEE.
- Mercurio y derivados.
- Medicamentos antimitóticos.
- Monóxido de carbono.
- Agentes químicos peligrosos de penetración cutánea formal.

#### B. Procedimientos

Procedimientos industriales que figuran en el Anexo I de la Directiva 90/349/CEE.

#### C. Condiciones de trabajo

Trabajos de minería subterráneos.

**ANEXO II**

**LISTA NO EXHAUSTIVA DE LOS AGENTES Y CONDICIONES DE TRABAJO (Tomada de Directiva 92/85/CEE de 19 de octubre de 1992)**

**A. Trabajadoras embarazadas**

1. Agentes
  - a) Agentes físicos:
    - Trabajos en atmósferas a sobrepresión elevada, por ejemplo en locales a presión, submarinismo.
  - b) Agentes biológicos:
    - Toxoplasma.
    - Virus de la rubéola.
 salvo si existen pruebas de que la trabajadora embarazada está suficientemente protegida contra esos agentes por su estado de inmunización.
  - c) Agentes químicos:
    - Plomo y derivados, en la medida en que estos agentes sean susceptibles de ser absorbidos por el organismo humano.
2. Condiciones de trabajo
  - Trabajos en minería subterráneos.

**B. Trabajadoras en período de lactancia**

1. Agentes
  - a) Agentes químicos:
    - Plomo y derivados, en la medida en que estos agentes sean susceptibles de ser absorbidos por el organismo humano.
  2. Condiciones de trabajo
    - Trabajos en minería subterráneos

la que «la evaluación de riesgos deberá comprender la determinación de la naturaleza, el grado y la duración de la exposición de las trabajadoras en situación de embarazo, parto reciente, así como en el período de lactancia, a agentes, procedimientos o condiciones de trabajo que puedan influir negativamente en la salud de las trabajadoras, el feto o el recién nacido o nacida».

En el artículo 25 se señala que «el empresario deberá tener en cuenta en las evaluaciones los factores de riesgo que puedan incidir en la función de la procreación de los trabajadores y trabajadoras, en particular la exposición a agentes físicos, químicos y biológicos que puedan ejercer efectos mutagénicos o de toxicidad para la procreación, tanto en los aspectos de la fertilidad como del desarrollo de la descendencia, con objeto de adoptar las medidas preventivas necesarias».

**ANEXO I**

**LISTA DE SUSTANCIAS, PREPARADOS Y PROCEDIMIENTOS (Tomada de Directiva 90/394/CEE de 28 de junio de 1990)**

1. Fabricación de Auramina.
2. Trabajos que supongan exposición a los hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en el hollín, el alquitrán, la brea, el humo o los polvos de hulla.
3. Trabajos que supongan exposición al polvo, al humo o a las nieblas producidas durante la calcinación y el afinado eléctrico de las matas de níquel.
4. Procedimientos con ácido en la fabricación de alcohol isopropílico.

**FISIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**

Actualmente se conocen algunos factores de riesgo, ya sean químicos, físicos, biológicos o ergonómicos, que pueden actuar sobre la fisiología de la reproducción humana provocando alteraciones bien en la concepción, bien en el desarrollo del embrión o feto o en el neonato. La posible acción nociva de estos riesgos dependerá de varios factores, como son: la fase de reproducción en la que actúan, la dosis de exposición y la coexistencia de dos o varios factores de riesgo ya sean laborales o extralaborales. Es preciso destacar que pueden existir factores nocivos que actúen en la fase de preconcepción, por lo que debe tenerse en cuenta la exposición laboral de la mujer y del hombre si nos planteamos una prevención eficaz, hecho este importante por ejemplo, ante sustancias como el plomo, el cloruro de vinilo o en el caso de exposición a radiaciones ionizantes (4) (Tablas I y II).

**FISIOLOGÍA DEL EMBARAZO**

Durante el embarazo se producen en el organismo una serie de cambios fisiológicos (cardio-circulatorios, endocrinológicos, metabólicos, etc), algunos de los cuales pueden interferir con la carga de trabajo.

La mujer embarazada sufre modificaciones cardiocirculatorias a lo largo de su embarazo; las principales alteraciones están relacionadas bien con el aumento de una serie de parámetros como el pulso (de 10 a 15 latidos/minuto), el volumen

**TABLA I. Alteraciones producidas por sustancias químicas**

Riesgos químicos		Alteraciones fertilidad hombre	Efecto en la reproducción	Aborto espontáneo	Parto prematuro	Malformación RN	Toxicidad lactancia
Metales	Plomo	X	X			X	X
	Mercurio	X		X	X	X	X
	Cadmio	X				X	
	Manganeso	X	X				X
	Arsénico			X	X	X	
Hidrocarburos	Diclorobromopropano	X	X				
	Clordecona		X				
	Fenil policlorados				X	X	X
Disolventes	Disulfuro de carbono			X	X	X	
	Disolventes orgánicos			X	X	X	
Esterilizantes	Óxido etileno			X	X	X	
Citostáticos	Agentes alquilantes			X		X	
Anestésicos	Gases halogenados	¿		X		X	X
	Óxido nitroso			¿		X	
Pesticidas	Organofosforados	X		¿	X		X
	Organoclorados				X		

Tomado de: *Guía sobre riesgos laborales en la maternidad*. Instituto Navarro de Salud Laboral.

**TABLA II. Alteraciones producidas por agentes físicos y biológicos**

Tipo de riesgo	Alteraciones fertilidad	Efecto en la reproducción del hombre	Aborto espontáneo	Parto prematuro	Malformación RN	Toxicidad lactancia	Enfermedad infantil
Calor	X	X				↓leche materna	X
Ruido	X						X
Vibraciones			X	X			
Choques y movimiento			X				
R. Ionizantes	X	X	X	X	X		
R. no ionizantes (infrarrojos)			X				
Estrés				X		↓leche materna	
Fumador pasivo				X		↓leche materna	
Rubeola			X		X		
Toxoplasma			X		X		X
VHB			X	X		X	
Varicela					X		
VIH			X	X		X	X
TBC			X				X
Rickettsia			X		X		
Parotiditis		X	X				
Citomegalovirus					X		X

Tomado de: *Guía sobre riesgos laborales en la maternidad*. Instituto Navarro de Salud Laboral.

sanguíneo (de un 25-45% como media), o el volumen minuto, bien en base a una redistribución vascular, a expensas fundamentalmente del aumento de riego en riñones, piel y útero o del aumento de la presión venosa en la región pélvica y en las extremidades inferiores, debida principalmente a la presión mecánica del útero y del feto sobre las venas ilíacas y la cava. En cuanto al metabolismo, existen modificaciones en el metabolismo basal, y en el consumo de oxígeno (incremento del 20% y entre el 20-30% respectivamente) (5).

Cuando se realiza un esfuerzo se produce una redistribución vascular en el sentido de que el envío a las zonas implicadas en la actividad de un mayor flujo sanguíneo, contrasta con un menor aporte a otros órganos. Esto puede suponer un riesgo para el feto, ya que podría verse afectado por esta redistribución vascular en el caso de que la embarazada realice esfuerzos excesivos. Se supone, pues, que grandes demandas físicas conllevan una reducción del flujo sanguíneo hacia el útero, hecho este que se verá agravado cuando además de existir esta sobrexposición, la actividad se desarrolle en un ambiente térmico inadecuado (5).

A medida que progresa el embarazo, la mujer está menos capacitada para realizar esfuerzos físicos, así como para levantar pesos, subir escaleras, etc., debido fundamentalmente a que el gasto cardíaco, las pulsaciones y el consumo de O<sub>2</sub> es mayor que en caso de no existir embarazo. Desde el punto de vista de la relación con las condiciones de trabajo, es preciso tener en cuenta que el volumen abdominal constituye un obstáculo tanto para la adopción de una buena postura como para el alcance de objetos y la movilidad de la persona. Las dimensiones corporales y el peso aumentan considerablemente en un período de tiempo relativamente corto. Esta ganancia de peso está centrada en la parte anterior del cuerpo con lo que se produce un desplazamiento del centro de masas. Hay que tener muy en cuenta que estas desviaciones de la normalidad pueden ser notablemente superiores en los embarazos múltiples (5).

En cuanto al manejo de cargas por parte de la mujer embarazada, y tal y como podemos ver en la Figura 1, se produce una desadecuación debida fundamentalmente al aumento de tamaño del abdomen con lo que se incrementa la distancia entre la carga y la persona, produciéndose, además de un incremento de la fuerza de compresión a nivel L5-S1, posturas inadecuadas a expensas de una mayor flexión lumbar necesaria para conseguir el alcance. Por otra parte y debido al aumento de demandas cardiorrespiratorias y a un ma-

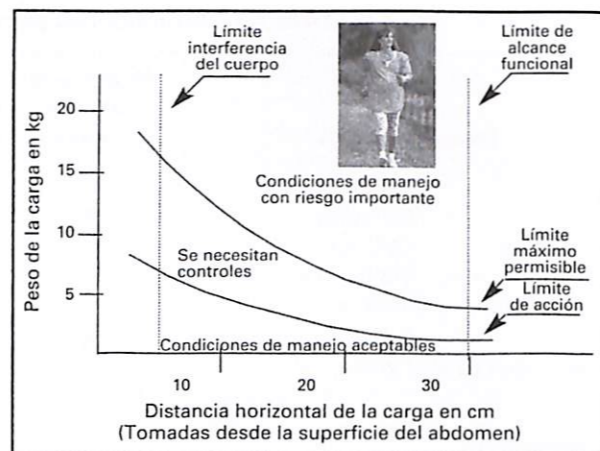


Figura 1. Manejo de cargas durante la gestación (adaptada de NIOSH-81).

yor consumo de oxígeno, en especial en los últimos meses, el peso máximo que puede manejar la mujer será menor del que es capaz en condiciones normales (5).

En el tercer trimestre de embarazo hay una reducción de la fuerza máxima para empujar y tirar de las cargas debido, por un lado, a la reducción de la fuerza muscular y, por otro, a la dificultad de adoptar una postura adecuada para aplicar la fuerza (6, 7).

Por otra parte, la mujer embarazada siendo más susceptible a los estresores físicos, parece que lo es también a los mentales. Las consecuencias negativas de estos estresores varían en función de la constitución, la resistencia y la adaptación que tenga cada trabajadora, pero cuando se producen, aparecen preferentemente en el último trimestre del embarazo.

Las causas de estrés pueden encontrarse en el propio embarazo (preocupación por dañar el feto, asumir responsabilidades económicas y familiares, aumento de peso y pérdida de la figura, etc.), en el trabajo doméstico que puede distar mucho de ser ameno y gratificante y en el trabajo fuera de casa.

Hasta el momento existen muy pocos estudios para comprobar la relación entre el estrés psíquico y el aborto espontáneo y además no se han obtenido resultados que permitan establecer dicha relación; un trabajo estresante no parece estar asociado a un aumento en el riesgo de aborto espontáneo por sí solo, sino relacionado con otras variables. En cuanto al parto prematuro, parece ser que es más frecuente en mujeres que trabajan en el turno de noche y puede duplicarse en caso de elevados niveles de fatiga física y mental de-

bida al trabajo. Sí que parece más evidente la relación entre fatiga y bajo peso del recién nacido.

**Prevención de las alteraciones de la reproducción**

Independientemente de la necesidad de una buena política sanitaria que incluya la obligatoriedad de estudios epidemiológicos que permitan avanzar en el conocimiento científico, la labor de prevención en el ámbito laboral se deberá dirigir hacia aquellas condiciones en las que existan sospechas o confirmación de relación causal. Asimismo, se tendrá que procurar abordar dos líneas diferentes de trabajo, una dirigida a la prevención colectiva mediante la información, formación y participación de todas las partes implicadas, y otra, mediante la puesta en marcha de sistemas de protección individual, para lo cual, será necesario desarrollar métodos para evaluar los riesgos y protocolizar la recogida de la información médico-obstétrico-laboral.

Sólo a partir de estos planteamientos se podrá llegar a decidir de la manera más objetiva posible si una trabajadora embarazada puede o no desempeñar una actividad laboral sin que se presuma daño para su propia salud o para la del futuro

recién nacido, de acuerdo con los conocimientos actuales, tal y como se observa en la Figura 2.

Ahora bien, respecto a este diagrama es preciso recordar que no sirve para la prevención en la fase de preconcepción y en el primer mes y medio de embarazo.

**EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS DERIVADOS DE PELIGROS ESPECÍFICOS**

La evaluación de riesgos consiste en un examen sistemático de todos los aspectos de la actividad profesional con objeto de determinar las causas probables de lesiones o daños y establecer la manera de controlarlas a fin de eliminar o reducir riesgos (1).

De acuerdo con la Directiva 92/85/CEE debe comprender al menos tres fases:

- Identificación de los peligros (agentes físicos, químicos, biológicos; procedimientos industriales; movimientos y posturas; carga de trabajo).
- Identificación de la categoría de las trabajadoras (embarazada, parto reciente, lactancia).
- Evaluación de los riesgos, tanto en términos cualitativos como cuantitativos.

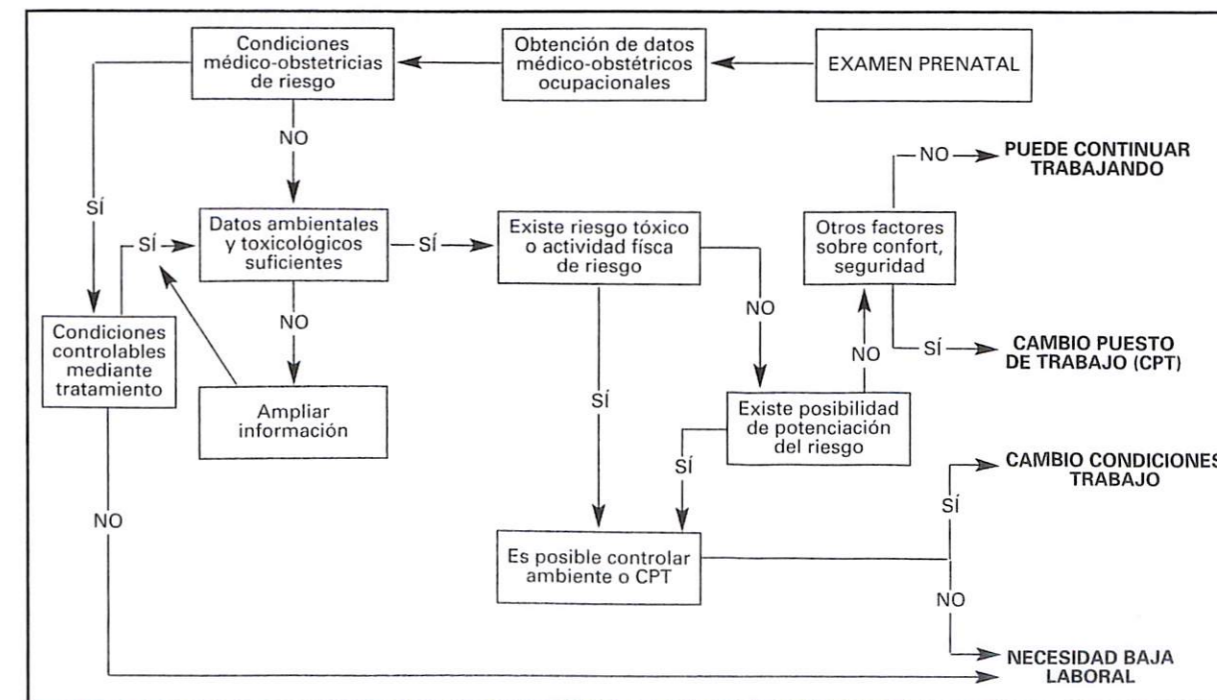


Figura 2. (Tomado de Moreno Saénz, N.: NTP 245: Sustancias químicas y efectos sobre la reproducción humana.

Esta evaluación de riesgos, de carácter específico en relación a la situación de maternidad, no puede ser considerada como un hecho puntual, ya que tanto las condiciones de trabajo como las de la propia embarazada pueden variar en el transcurso del tiempo. Deberíamos hablar pues de una «monitorización constante de los riesgos» que debe estar permanentemente relacionada con la situación médico-obstétrica de la trabajadora. Por lo tanto, el trabajo se debe dirigir en estas dos líneas: condiciones del puesto de trabajo y características médico-obstétricas de la trabajadora. Es preciso añadir además que, en este tema, la dualidad anteriormente mencionada se multiplica ya que los riesgos pueden afectar no sólo al feto, sino también al recién nacido, y lógicamente, no sólo durante las distintas fases del embarazo sino también después del parto.

Para llevar a cabo una correcta evaluación deberemos comenzar por lo tanto, por tratar de identificar los posibles riesgos que, en el caso que nos ocupa, pueden ser físicos, químicos y biológicos. Para ello, podremos utilizar diversas fuentes de información: la etiqueta del producto, las bases de datos relativas a productos químicos, el análisis del puesto de trabajo, los datos relativos a determinaciones analíticas y la historia médico-obstétrica de la trabajadora.

### Riesgos físicos

La trabajadora embarazada no puede verse obligada, en ningún caso, a realizar trabajos en atmósferas de sobrepresión elevada, por ejemplo, en locales a presión o la práctica de submarinismo (Directiva 92/85/CEE). Se deberá determinar la naturaleza, el grado y la duración de la exposición de estas trabajadoras a los agentes físicos que figuran en el Anexo I de la mencionada Directiva (Tabla III).

En el Apéndice I se encuentran identificados diferentes agentes de riesgo, así como la posible repercusión en la embarazada, en el feto o durante el período de lactancia (1). Se incluye para cada uno de ellos las referencias legales de interés.

### Riesgos biológicos

La trabajadora embarazada no podrá verse obligada, en ningún caso, a realizar actividades que de acuerdo con la evaluación supongan el riesgo de una exposición a los agentes y condiciones de trabajo que se enumeran en el Anexo II, sección A, de la Directiva 92/85/CEE. Se deberá

**TABLA III. Factores de riesgo físicos y biológicos recogidos en Directiva 92/85 CEE**

Prohibición de trabajar	Determinar naturaleza, grado y duración
Atmósferas de sobrepresión elevada	Choques, vibraciones, movimientos; ruido, manejo de cargas; radiaciones ionizantes; radiaciones no ionizantes, frío y calor extremos; movimientos, posturas y desplazamientos, fatiga mental y física
Toxoplasma* Virus de la rubeola*	Agentes biológicos de los grupos de riesgo 2, 3 y 4**

\* Salvo si existen pruebas de que la trabajadora embarazada está suficientemente protegida contra estos agentes por su estado de inmunización.

\*\*Agente del grupo 1: con escasa probabilidad de causar enfermedad en el hombre; agente del grupo 2: puede causar enfermedad en el hombre y puede suponer un peligro para los trabajadores. Es poco probable que se propague a la colectividad. Existen generalmente profilaxis o tratamientos eficaces; agente del grupo 3: puede causar una enfermedad grave en el hombre y presenta un serio peligro para los trabajadores. Existe el riesgo de que se propague a la colectividad. Existen generalmente profilaxis o tratamientos eficaces; agente del grupo 4: causa una enfermedad grave en el hombre y supone un serio peligro para los trabajadores. Existen muchas probabilidades de que se propague a la colectividad. No existen generalmente profilaxis o tratamientos eficaces.

determinar la naturaleza, el grado y la duración de la exposición de las trabajadoras embarazadas o en período de lactancia a los agentes biológicos que figuran en el Anexo I de la mencionada Directiva (Tablas III y IV) (ver Apéndice I).

La decisión de vacunar a una embarazada debe valorarse individualmente en cada caso, ya que depende de la probabilidad de contraer la enfermedad, del riesgo que suponga para la madre o para el feto y de los efectos perjudiciales que pueda tener sobre ellos. Durante el período de lactancia se puede administrar cualquier tipo de vacuna tanto a la madre como al niño. Las vacunas que contienen gérmenes vivos atenuados no deben administrarse a las embarazadas y deben evitarse durante los tres meses previos a la concepción, en consecuencia, es preferible la administración de vacunas a partir del segundo trimestre de embarazo. En el caso de tener que administrar vacuna de polio oral o contra la fiebre amarilla debe valorarse el riesgo-beneficio sobre todo en casos de epidemia. Las vacunas de gérmenes muertos o inactivados pueden administrarse durante el embarazo aunque preferentemente a partir del segundo trimestre de embara-

**TABLA IV. Agentes biológicos presentes en el lugar de trabajo causantes de enfermedades y que son peligrosos para la reproducción humana**

Agente	Efectos observados	Trabajadoras potencialmente expuestas	Medidas preventivas
Citomegalovirus	Defectos en el nacimiento, bajo peso RN, desórdenes del desarrollo	Sanitarias, trabajadoras en contacto con jóvenes y niños	Buenas prácticas higiénicas
VHB	Bajo peso RN	Sanitarias	Vacunación
VIH	Bajo peso RN, cáncer infantil	Sanitarias	Precauciones de práctica universal
Parvovirus humano B19	Aborto	Sanitarias, trabajadoras en contacto con jóvenes y niños	Buenas prácticas higiénicas
Rubeola	Defectos al nacer, bajo peso RN	Sanitarias, trabajadoras en contacto con jóvenes y niños	Vacunación antes del embarazo
Toxoplasma	Aborto, defectos al nacer, desórdenes del desarrollo	Sanitarias, veterinarias	Buenas prácticas higiénicas
Varicela	Defectos al nacer, bajo peso RN	Sanitarias, trabajadoras en contacto con jóvenes y niños	Vacunación antes del embarazo

Tomado de: *Guía para de buenas prácticas para la mejora de la seguridad y la salud en el trabajo por razones de reproducción y maternidad*. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, mayo 2002.

zo. Las únicas vacunas que deben administrarse de forma sistémica son las de tétanos y difteria. Las vacunas no desaconsejadas se deben administrar a partir de la 16 semana de gestación. Las inmunoglobulinas pueden administrarse cuando estén indicadas (8, 9) (Tabla V).

En cuanto a la vacunación de la embarazada para protección postnatal del feto, parece que sólo la de la hepatitis B provoca reacción protectora suficiente en el recién nacido, no obstante se han hecho ensayos con otras vacunas con resultados diferentes (9).

**TABLA V. Vacunación durante el periodo de gestación**

Contraindicadas	Indicadas sólo en situaciones especiales		Indicadas si se precisan	
	Antes exposición inevitable inminente	En mujeres de alto riesgo	En situaciones de brote	De forma específica si se precisan
Contraindicadas (desde el primer mes de embarazo)				
Triple vírica	Polio oral	BCG*	Meningococo	Gripe
Varicela	Fiebre amarilla	Tos ferina*		Encefalitis por garrapatas
Cólera viva	Rabia	Polio inactivada*		Hepatitis B
	Cólera inactivada	Neumococo*		Tétanos
		Tifoide Vi		Difteria*
		Hepatitis A		
		Encefalitis japonesa		

\* Evitar en primer trimestre.

**Riesgos químicos**

La trabajadora en período de lactancia no podrá verse obligada, en ningún caso, a realizar actividades que de acuerdo con la evaluación supongan el riesgo de una exposición a los agentes y condiciones de trabajo que se enumeran en el Anexo II, sección B, de la Directiva 92/85/CEE. Se deberá determinar la naturaleza, el grado y la duración de la exposición de las trabajadoras embarazadas o en período de lactancia a los agentes químicos que figuran en el Anexo I de la mencionada Directiva (Tabla VI) (ver Apéndice I). El listado detallado de sustancias se puede encontrar en la normativa que se refiere a etiquetado de sustancias peligrosas y en el documento sobre límites de exposición profesional de INSHT.

Existen diferentes clasificaciones de las diversas sustancias que procuran el acceso a la información más relevante de cada una de ellas para con la gestación. Así, cabe nombrar un sistema de almacenamiento de la información (REPRO-TEXT®) en virtud de la sustancia, las fuentes de exposición, su tipología y las consecuencias sobre seres humanos y/o animales. Este sistema clasifica a los agentes en varias categorías: A+: agente de riesgo para la reproducción humana con desconocimiento de la dosis sin efecto; A: agente de riesgo para la reproducción humana con conocimiento de la dosis sin efecto; A-: sin confirmar como agente de riesgo para la reproducción humana; B+: agente con múltiples efectos en animales y sin datos en humanos; B: agente con efectos mixtos en animales y sin datos en humanos; B-: agente con pocos efectos en animales y sin datos en humanos; C: no hay datos respecto a la repro-

ducción; D: insuficiente información; E: No afecta a animales y sin datos en humanos. F: no afecta a humanos (10).

En virtud de esta clasificación se establece la necesidad de actuación ante una embarazada, de tal manera que aquellos agentes clasificados como A+, A, A- se consideran de alto riesgo; los clasificados como B+, B, B- de riesgo moderado; los clasificados como C, E, F, son considerados de bajo riesgo. En función de la tipificación del riesgo se toman las decisiones pertinentes en pro de proteger a la mujer embarazada (11-13).

Paralelamente a la identificación del riesgo y estimación del grado de exposición es necesario recabar toda la información posible acerca de las condiciones médico-obstétricas de la trabajadora. Para ello presentamos el denominado «Protocolo de Revisión Médico Laboral de la trabajadora embarazada» que incluye una hoja de trabajo recoger la información médico-obstétrica de la trabajadora («Historia médico-obstétrica-laboral») y en la que se recogen todos aquellos datos que consideramos de interés para la atención a este tipo de trabajadoras. El protocolo se complementa con una *Guía para la observación del puesto de trabajo* en la que quedan reflejados los datos que creemos deben ser tenidos en cuenta y que una vez confrontados con los obtenidos en la historia clínica permitirán decidir sobre la adecuación de la actividad laboral a la situación de embarazo. Este protocolo y guía son objeto de otra publicación (ver: «Gestación y trabajo: protocolización de la asistencia a la trabajadora embarazada en Salud Laboral. 2.ª Parte: Protocolo de revisión médico-laboral de la trabajadora embarazada»).

**TABLA VI. Factores de riesgo químicos recogidos en Directiva 92/85/CEE**

Prohibición de trabajar	Determinar naturaleza, grado y duración
Plomo y derivados en la medida que sean susceptibles de ser absorbidos por el organismo humano	Sustancias etiquetadas* R40, R45, R46, R47; mercurio y derivados; antimetabólicos; monóxido de carbono; otras sustancias químicas peligrosas de penetración cutánea formal**, fabricación auramina; hidrocarburos aromáticos policíclicos (presentes en el hollín, alquitrán, brea, humo y polvos de hulla); procedimiento de ácido fuerte en la fabricación de alcohol isopropílico, polvo, humo o nieblas producidas durante la calcinación y el afinado de las matas de níquel.

\* Sustituidas por las R61, 63 y 64 por la Directiva 67/548/CEE, modificada por la Directiva 90/517/CEE.

\*\* Se refiere fundamentalmente a los plaguicidas.

**APÉNDICE I**

**Agentes físicos/condiciones de trabajo**

**Legislación europea (además de la Directiva 92/85/CEE)**

La exposición frecuente a **choques** (golpes violentos y bruscos) o a **vibraciones** de baja frecuencia, por ejemplo, conducir o desplazarse en vehículos todo terreno, o un **movimiento** excesivo pueden aumentar el riesgo de aborto. La exposición prolongada a vibraciones en todo el cuerpo puede aumentar el riesgo de parto prematuro de bajo peso del recién nacido (1, 3, 13). Las trabajadoras en período de lactancia no están expuestas a mayores riesgos que los demás trabajadores/as.

Se aplica la Directiva marco 89/391/CEE. Directiva 2002/44/CE.

La exposición prolongada a niveles de **ruido** elevados puede aumentar la presión arterial y la fatiga. Una exposición prolongada del feto a niveles de ruido elevados durante la gestación puede afectar posteriormente al oído (13). La utilización por parte de la madre de protección auditiva no representa protección para el feto. Se considera un nivel de ruido aceptable 80 dbA cada ocho horas diarias. La OMS considera que una dosis diaria equivalente de 65 dB es el límite para la salud física y mental de las personas. No hay problemas específicos por lo que respecta a las trabajadoras que han dado a luz recientemente o que están en período de lactancia.

Directiva 86/188/CEE (exposición al ruido durante el trabajo).

La exposición a las **radiaciones ionizantes** conlleva riesgos para el feto. También es preciso considerar la posible exposición del recién nacido a través de la leche materna. Es preciso informar sobre la necesidad de declarar lo más rápidamente posible la situación de embarazo a fin de proceder a poner en marcha las medidas de protección. El límite de exposición para una mujer en situación de procrear es de 13 mSv en un trimestre (3). Las condiciones de trabajo de la mujer embarazada serán tales que la dosis equivalente del feto no exceda 1 mSv durante el embarazo. La exposición media anual durante cinco años para cualquier trabajador no puede exceder 20 mSv por año (y no puede ser superior a 20 mSv en ningún año). Los procedimientos de trabajo deben diseñarse de modo que eviten toda exposición de las embarazadas a las radiaciones ionizantes. La trabajadora embarazada se encuentra expuesta a idénticos riesgos que la población general, pero este agente es muy nocivo para el feto y también es posible la afectación del niño a través de la leche materna.

Directiva 96/29/EURATOM. Directiva 97/43/EURATOM. RD 783/2001.

No puede excluirse la posibilidad de que la exposición a **radiaciones electromagnéticas no ionizantes**, incluida la vinculada a los tratamientos por onda corta, la soldadura de plásticos y la vulcanización de adhesivos pueda aumentar el riesgo para el feto.

Directiva marco 89/391/CEE.

Las embarazadas presentan una menor tolerancia al calor. El trabajo en condiciones de frío extremo puede resultar peligroso para la embarazada y el feto. Debe proporcionarse ropa de abrigo. Las embarazadas no deben estar expuestas a **calor o frío** excesivo y prolongado en el lugar de trabajo (se consideran adecuadas temperaturas entre 17°-27° para trabajos sedentarios y entre 14°-25° para trabajos ligeros).

Directiva marco 89/391/CEE. Directiva 89/654/CEE. Directiva 92/57/CEE. RD 486/1997, 1627/1997.

Se desconoce si las embarazadas tienen mayor riesgo de verse afectadas por el **trabajo en atmósferas de sobrepresión**, aunque es posible que afecten al feto. Las trabajadoras embarazadas no deben trabajar en un entorno de aire comprimido. No existe ninguna razón fisiológica que impida a una mujer en período de lactancia trabajar en estas condiciones. Se aconseja a las embarazadas que no practiquen el **submarinismo** durante la gestación debido a los posibles efectos negativos del ambiente de sobrepresión elevado en el feto. No puede exigirse a las trabajadoras embarazadas que practiquen el submarinismo. No existen pruebas que contraindiquen el submarinismo durante el período de lactancia.

Directiva marco 89/391/CEE.

Se considera que la **manipulación manual de cargas pesadas** conlleva riesgos para el embarazo, tales como lesión fetal y parto prematuro. El riesgo se relaciona con el peso de la carga y con las condiciones de manejo (distancia, frecuencia, etc.). Este riesgo aumenta paralelamente al tiempo de gestación ya que el aumento de tamaño del abdomen condiciona una mayor distancia de alcance para manejar la carga lo que aumenta el riesgo de daño a nivel L5-S1. En el caso que sean mujeres las que realizan el manejo manual de cargas, éstas no deberían superar los 15 kg. de peso (RD 487/1997 de 14 de abril). La mujer embarazada no debería manejar cargas superiores a 11 kg (14).

Directiva 90/629/CEE. RD 487/1997.

APÉNDICE I (continuación)

Agentes físicos/condiciones de trabajo	Legislación europea (además de la Directiva 92/85/CEE)
Existe la prohibición del transporte manual de cargas durante el embarazo y las diez semanas siguientes al parto si a juicio del médico puede comprometerse la salud de la embarazada o del feto (Recomendación núm. 128, 1967 de la OIT). También es preciso tener en cuenta estas consideraciones en el caso de cesárea. Durante el último trimestre disminuye la capacidad de fuerza máxima por lo que la embarazada tiene menos capacidad para ejercer fuerzas de empuje y tracción.	
Los problemas derivados de las <b>posturas</b> adoptadas para la realización del trabajo pueden surgir en las distintas fases del embarazo, en función de cada trabajadora y de las actividades y condiciones de trabajo. Estos problemas pueden aumentar a lo largo del embarazo, principalmente si el trabajo conlleva movimientos incómodos o largos períodos de pie o sentada sin posibilidad de cambio de postura. Es recomendable evitar aquellas tareas que se realizan en altura así como aquellas que requieren equilibrio.	
Los trabajos de <b>minería</b> subterráneos deben ser evitados tanto en la embarazada como durante el período de lactancia.	Directiva 92/104/CEE.
No existen datos que indiquen relación entre abortos o malformaciones y trabajo con <b>pantalla de visualización</b> .	Directiva 90/270/CEE.
El embarazo y la lactancia conlleva cambios fisiológicos que pueden hacer que los <b>equipos de trabajo y de protección</b> no sólo resulten incómodos sino también inseguros en algunos casos, por ejemplo si no se ajustan debidamente o si se reduce la movilidad operativa, la destreza o la coordinación.	Directiva 89/655/CEE. Directiva 89/656/CEE.
<b>Agentes biológicos/condiciones de trabajo</b>	
Muchos de los agentes de los tres grupos de riesgo mencionados pueden afectar al feto en caso de infección de la madre durante el embarazo. Estos agentes pueden transmitirse a través de la placenta o durante o después del parto (a través de la leche materna o por contacto físico). Actuarían de esta forma agentes como: virus de la hepatitis B, hepatitis C, VIH, herpes, TBC, sífilis, varicela, tífus. Es preciso realizar pruebas de inmunidad para las actividades de riesgo (varicela, rubéola, toxoplasma, parvovirus) y, en caso de que la trabajadora sea seronegativa, prever su traslado a otro puesto o un permiso temporal durante la epidemia. En caso de proponer las vacunas disponibles, se deben tener en cuenta las contraindicaciones relativas a la administración de algunas de ellas en la mujer embarazada al inicio del embarazo (Tabla V).	Directiva 90/679/CEE.
Rubeola, toxoplasma, citomegalovirus, VHB, VIH, parvovirus, varicela, clamidia (incluidos en los grupos de riesgo 2, 3 y 4) pueden tener efectos nocivos sobre el feto. Debe evitarse la exposición a estos agentes biológicos excepto en los casos en los que las embarazadas estén protegidas por su estado de inmunización.	Directiva 90/679/CEE.
<b>Agentes químicos/condiciones de trabajo</b>	
<b>Sustancias</b> etiquetadas con las frases: R40 (posible riesgo de efectos irreversibles), R45 (puede causar cáncer), R46 (puede causar alteraciones genéticas hereditarias), R49 (puede causar cáncer por inhalación), R61 (puede causar daños al feto), R63 (posible riesgo de daño para el feto), R64 (puede causar daños al lactante). El riesgo real para la salud que presentan estas sustancias sólo puede determinarse tras una evaluación del riesgo. Es posible que no exista ningún riesgo en la práctica, cuando la exposición está por debajo del nivel susceptible de tener efectos nocivos. Para las industrias químicas	Directiva 98/24/CEE. Directiva 90/394/CEE. Directiva 67/548/CEE. Directiva 91/115/CEE. Directiva 93/112/CEE. Directiva 90/517/CEE. RD 363/95.

APÉNDICE I (continuación)

Agentes químicos/condiciones de trabajo	Legislación europea (además de la Directiva 92/85/CEE)
puede ser de utilidad la consulta de la guía <i>Guidance on the health protection of pregnant woman at work</i> del CEFIC (Consejo Europeo de Federaciones de la Industria Química).	
Los <b>preparados</b> que contengan una concentración superior a los límites establecidos para una sustancia etiquetada con las frases de riesgo R40, R45, R46, R49, R61, R63, R64 presenta riesgos similares.	Directiva 88/379/CEE o 1999/45/CEE. RD 363/95.
Los compuestos orgánicos de <b>mercurio</b> pueden tener efectos nocivos para el feto. El mercurio orgánico pasa a la leche materna, por lo que, en el caso que la madre haya sufrido una exposición importante antes y durante su embarazo, puede suponer riesgo para el recién nacido. Hay riesgo en embarazo y lactancia por afectación de feto o de recién nacido.	Directiva 80/1107/CEE. Directiva 98/24/CEE.
Los medicamentos <b>antimitóticos</b> pueden alterar, a largo plazo, la información genética del espermatozoides y de los óvulos. Algunos pueden causar cáncer. Se absorben a través de la piel o por inhalación. No se conocen valores límite y la exposición debe evitarse o reducirse. Debe informarse a las trabajadoras que deseen concebir un hijo, que estén embarazadas o en período de lactancia. Una trabajadora embarazada que prepare soluciones para medicamentos antineoplásicos debe ser transferida a otro puesto. Hay riesgo durante embarazo y lactancia.	
Algunos agentes <b>químicos</b> , entre los que se incluyen algunos <b>pesticidas</b> , pueden penetrar por la piel intacta y ser absorbidos por el organismo, por lo que deben tomarse precauciones para evitar el contacto con la piel.	Directiva 91/322/CEE. Directiva 96/94/CE. Directiva 2000/39/CE.
Las embarazadas pueden estar más expuestas a los efectos de la exposición a <b>monóxido de carbono</b> . Se produce cuando se utiliza gasolina, gasóleo y gas de petróleo licuado como fuente de energía en los motores y electrodomésticos. También puede formarse CO a partir de cloruro de metileno (disolvente de pinturas). Los riesgos surgen cuando los motores o aparatos funcionan en espacios cerrados. Atraviesa la placenta y puede afectar al feto. Es importante evaluar el grado y la duración de la exposición. No se ha demostrado la afectación del niño a través de la leche materna. Tampoco parece que la madre sea más sensible al CO después del parto. La evaluación de riesgos puede verse dificultada por el tabaquismo activo o pasivo o por la contaminación atmosférica. Debe evitarse una exposición permanente de las trabajadoras (incluso una exposición ocasional podría ser perjudicial). Es preciso informar a la embarazada del peligro de la exposición al CO que emana del tabaco. Hay riesgo en embarazo por afectación del feto.	Directiva 98/24/CEE.
La exposición al <b>plomo</b> , tanto durante la gestación como después del parto, puede afectar al desarrollo del sistema nervioso y de los órganos de formación de sangre. Las mujeres, recién nacidos y niños pequeños son más sensibles que los hombres adultos. Pasa a la leche materna, con el consiguiente riesgo para el niño, si la madre ha sufrido exposición importante antes y durante el embarazo. Las mujeres en edad fértil están sujetas a un nivel más bajo de plumbemia que los demás trabajadores. Dadas las características de esta sustancia, parece que lo más lógico es apartar a las embarazadas o en período de lactancia de las zonas con presencia de plomo. Esto es particularmente aconsejable cuando existe una exposición a compuestos de plomo orgánico.	Directiva 82/605/CEE. Directiva 98/24/CE. Directiva 2000/39/CE.
Los procesos industriales siguientes: fabricación de <b>auramina</b> , procedimiento con ácido fuerte en la fabricación de <b>alcohol isopropílico</b> , y los trabajos que supongan exposición a <b>hidrocarburos aromáticos policíclicos</b> (presentes en hollín, brea, alquitrán, humo o polvos de hulla) o los que se exponen al polvo, humo o nieblas producidas durante la calcinación y el afinado de las matas de níquel, pueden presentar riesgo de cáncer. Debe evitarse la exposición a estos riesgos.	Directiva 90/394/CEE.
Algunos <b>gases anestésicos</b> (fundamentalmente protóxido de nitrógeno, halotano) usados generalmente en quirófanos pueden suponer riesgo por afectación del feto.	Directiva 98/8/CEE. RD 3349/83.

APÉNDICE I (continuación)

Agentes químicos/condiciones de trabajo

Legislación europea (además de la Directiva 92/85/CEE)

Algunos agentes químicos pueden absorberse por vía cutánea tal como los **plaguicidas**. Pueden suponer riesgo en el embarazo y lactancia.

Los disolventes y sus vapores son comúnmente usados tanto en el ambiente doméstico como en laboral. Exposiciones severas podrían suponer riesgo durante la gestación. Están presentes en lacas, resinas, tintes textiles, limpieza de cuero, tintorerías, gasolina, etc. De entre ellos destacan el **benceno** usado en la industria de la gasolina (teratogénico, carcinógeno), el **tolueno** usado como disolvente de pinturas y pegamentos (teratogénico), el **óxido de etileno**, usado como anticongelante, en detergentes, películas fotográficas y esterilizante, también se considera como factor de riesgo en el embarazo (riesgo de aborto). Los riesgos asociados a los disolventes en general, pueden mantenerse durante la lactancia.

Convenio 136 OIT.  
RD 665/1997.  
Convenio 136 OIT.

BIBLIOGRAFÍA

1. Comunicación de la comisión sobre las directrices para la evaluación de los agentes químicos, físicos y biológicos, así como los procedimientos industriales considerados como peligrosos para la salud o la seguridad de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia (Directiva 92/85/CEE del Consejo). Comisión de las Comunidades Europeas. Bruselas 05.10.2000. COM (2000) 466 final.
2. MORENO SÁENZ N. NTP 414: Reproducción: fuentes de información. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 1996.
3. CAVAS MARTÍNEZ F. Maternidad y Salud Laboral. *Salud y Trabajo*. 1996; 113 : 5-13.
4. MORENO SÁENZ N. NTP 245: Sustancias químicas y efectos sobre la reproducción humana. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2001.
5. NOGAREDA CUIXART S, NOGAREDA CUIXART C. NTP 413: Carga de trabajo y embarazo. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 1996.
6. KOEMEESTER A P, BROERSEN J P J, TREFFERS P E. Physical work load and gestational age at delivery. *Occupational and Environmental Medicine*, 1995; 52: 313-315.
7. JEANNETTE A P, FRANK J H, VAN DIJK, MONIQUE H W, FRINGS-DRESEN. Work load and musculoskeletal complaints during pregnancy. *Scand J Work Environ Health*. 1994; 20:153-159.
8. *Manual de Enfermedades Infecciosas en Atención Primaria. Grupo de enfermedades infecciosas*. Litofinter, S.A., 1999.
9. EIRAS, et al. *Bases inmunológicas de las vacunas*. PBM S.L., ed., 2002; p 86.
10. REPRORISK SYSTEM. Micromedex, Inc., Englewood, Colorado (volumen 99, 1999).
11. NIOSH. *Efectos de los riesgos ocupacionales en la salud reproductiva de la mujer*. DHHS (NIOSH). Publicación 99-104. Publications Dissemination, EID. National Institute for Occupational Safety and Health. Cincinnati, Ohio 45226-1998.

12. DROZOWSKY S L, WHITTAKER S G. *Workplace hazards reproductive and development: A resource for workers, employers, health care providers and health and safety personnel*. Olympia, WA, 1999.
13. *Guía para de buenas prácticas para la mejora de la seguridad y la salud en el trabajo por razones de reproducción y maternidad*. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, mayo 2002.
14. Convenio OIT n.º 103. *Protección de la maternidad*.
15. American Academy of Pediatrics. Committee on environmental health. *Pediatrics*, 1997; 100: 4.
16. LINDA M. Tapp. Potential hazards and key safeguards. *Ergonomics*, 2000 Aug; 29-32.

Otras fuentes bibliográficas de interés que han sido consultadas

Convenio OIT n.º 103. *Protección de la maternidad*.  
Convenio OIT n.º 127. *Peso máximo de la carga que puede ser transportada por un trabajador*.  
Directiva 92/85/CEE. *Aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia*.  
Directiva marco 89/391/CEE. *Aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud de los trabajadores en el trabajo*.  
ISBN 97-727-4278-9 de 1993-94. *Directrices para la evaluación de los riesgos en el trabajo*.  
Directiva 98/24/CEE. *Exposición a agentes físicos, químicos y biológicos durante el trabajo*.  
Directiva 97/43/EURATOM. *Riesgos derivados de las radiaciones ionizantes en exposición médica*.  
Directiva 90/269/CEE. *Disposiciones mínimas de seguridad y de salud relativas a la manipulación manual de cargas*.  
Directiva 90/270/CEE. *Pantallas de visualización*.  
Directiva 89/654. *Disposiciones mínimas de salud y de seguridad en el lugar de trabajo*.  
Directiva 86/188/CEE. *Exposición al ruido durante el trabajo*.

Directiva 96/29/CEE EURATOM. *Protección de la salud contra los riesgos derivados de las radiaciones ionizantes*.  
Directiva 99/45/CEE. *Clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos*.  
Directiva 96/94. *Valores límite indicativos de exposición a agentes químicos durante el trabajo*.  
Directiva 92/104. *Protección de los trabajadores de las industrias extractivas*.  
Directiva 89/655. *Disposiciones mínimas de salud y seguridad para la utilización por los trabajadores en el trabajo de equipos de trabajo*.  
Directiva 89/656/CEE. *Disposiciones mínimas en salud y seguridad para la utilización por los trabajadores en el trabajo de equipos de protección individual*.  
Directiva 67/548/CEE. *Clasificación, embalaje y etiquetado de sustancias peligrosas*.  
Directiva 93/112/CEE. *Sistema de fichas de datos de seguridad*.

Directiva 93/104/CEE. *Trabajo a turnos*.  
Directiva 90/394/CEE. *Protección de los trabajadores por la exposición a agentes cancerígenos*.  
Directiva 90/679/CEE. *Exposición a agentes biológicos durante el trabajo*.  
Directiva 2000/54. *Protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos*.  
Directiva 2002/44. *Disposiciones mínimas en salud y seguridad relativas a la exposición de los trabajadores a los riesgos derivados de los agentes físicos (vibraciones)*.  
Recomendación OIT n.º 95. *Protección de la maternidad*.  
Recomendación OIT n.º 128. *Peso máximo de la carga que puede ser transportada por un trabajador*.  
RD 488/97 *sobre disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas al trabajo con equipos que incluyen pantallas de visualización*.



FUNDACION MAPFRE MEDICINA

Curso  
2004-2005

XXVIII

Convocatoria de Becas de Formación Profesional para Personas con Minusvalía Física

• España • Portugal • Andorra

Bases de la Convocatoria

1. Podrán optar a estas becas todas aquellas personas de nacionalidad española, andorrana, portuguesa o con residencia legal en España (con conocimiento del idioma español) que tengan entre 17 y 40 años, afectadas por una minusvalía física, independientes en las actividades de la vida diaria.
2. El objetivo de la beca es la formación profesional en una de las áreas convocadas.
3. El cuestionario oficial deberá enviarse antes del 16 de abril de 2004, al domicilio social de la Fundación. El cuestionario oficial puede solicitarse, indicando discapacidad física, edad y nivel de estudios a:  
FUNDACIÓN MAPFRE MEDICINA  
Dpto. de Readaptación Profesional  
Carretera de Pozuelo, 61. 28220 Majadahonda (Madrid)  
www.mapfremedicina.es  
infofinm@mapfremedicina.es
4. El importe de la beca en el Centro de Rehabilitación cubrirá: enseñanza, material didáctico, alojamiento (cuando proceda), manutención, chándal-uniforme, una asignación económica para gastos personales y dos viajes (incorporación al Centro y regreso a casa).
5. El fallo de la convocatoria se comunicará a partir del 30 de junio de 2004. Los cursos de Formación Profesional se impartirán en el Centro de Rehabilitación de FREMAP, situado en Majadahonda (Madrid-España). Comenzarán el 7 de septiembre de 2004 y tendrán una duración de cuatro a diez meses (según área).

Áreas convocadas

Áreas	Especialidades	Duración
Autoedición	Autoedición	10 meses
Automoción	Mecánica Electricidad	10 meses
Calidad industrial	Bombas de Inyección Diesel Laboratorio de Metrología Ensayos de Materiales Metalografía	10 meses
Carpintería de aluminio	Carpintería de aluminio	10 meses
Contabilidad	Contabilidad	10 meses
Ebanistería	Ebanistería Máquinas y montaje	10 meses
Electricidad industrial	Mantenimiento Industrial Instalaciones Eléctricas	10 meses
Electrónica	Reparación TV/Vídeo/HIFI Metrología eléctrica Instalación de antena	10 meses
Informática básica	Tratamiento de textos Bases de datos Internet. Páginas Web	5 meses
Jardinería	Mantenimiento de jardín Iniciación al trabajo en viveros	6 meses
Restauración de mueble antiguo	Restauración de mueble antiguo	10 meses
Zapatería	Reparación de calzado	4 meses

# Infiltrados linfocitarios de células NK y apoptosis en tumores cerebrales metastásicos

## Lymphocytary infiltrates of NK-cells and apoptosis in metastatic brain tumors

Unidad de Investigación Neurociencias  
Fundación MAPFRE Medicina  
Hospital Universitario Puerta de Hierro  
Madrid

Vaquero J.  
Zurita M.  
Aguayo C.  
Oya S.  
Coca S.

### RESUMEN

**Introducción:** El desarrollo de fenómenos de apoptosis en las células de los tumores sólidos se ha tratado de relacionar con un ataque inmunológico a cargo de células linfocitarias tipo Natural Killer (NK).

**Objetivo:** Teniendo en cuenta que los tumores cerebrales metastásicos se caracterizan por una intensa infiltración linfocitaria, el propósito del presente trabajo es verificar si existe una correlación entre la presencia de linfocitos tipo NK en el estroma de estos tumores y el desarrollo de fenómenos de apoptosis.

**Material y métodos:** Se ha estudiado una serie de 20 metástasis cerebrales obtenidas tras su extirpación quirúrgica, marcándose las células NK del estroma tumoral mediante el anticuerpo monoclonal CD57. Igualmente, se marcaron las células tumorales en apoptosis mediante el anticuerpo monoclonal F7-26. Se utilizó el test de Spearman para conocer si existía una correlación entre presencia de células NK en el estroma tumoral y presencia de células tumorales apoptóticas.

**Resultados:** En todos los tumores estudiados existían células en apoptosis, pero en número variable, con un índice de marcaje promedio de 11,48%. En todos los casos se observó, igualmente, que existían células linfocitarias tipo NK en el estroma tumoral, también en proporción variable, oscilando entre 4 y 20 por campo, a un aumento de 200x (valor medio de 8,4 células/campo). El estudio estadístico efectuado en esta serie de tumores no demostró que existiera una correlación entre presencia de células NK y número de células en apoptosis. Este hallazgo sugiere que, al menos en el caso de las metástasis cerebrales, las células NK no desempeñan un papel significativo en los mecanismos de defensa inmunológica.

**Palabras clave:** Células NK, apoptosis, metástasis cerebrales, CD57, F7-26.

Vaquero J, Zurita M, Aguayo C, Oya S, Coca S  
Infiltrados linfocitarios de células NK y apoptosis en tumores cerebrales metastásicos  
Mapfre Medicina, 2004; 15: 44-48

### Correspondencia:

J. Vaquero  
Servicio de Neurocirugía  
Hospital Universitario Puerta de Hierro  
San Martín de Porres, 4  
28035 Madrid

### ABSTRACT

**Introduction:** Cell apoptosis in solid tumors has been related to immunologic attack by NK-cells.

**Objective:** The purpose of the present study is to verify, in the tissue of brain metastases, a possible relationship among the degree of NK-cell infiltration and the number of apoptotic tumor cells.

**Material and methods:** Twenty brain metastases have been studied. NK-cells were identified by using the monoclonal antibody to CD57. Apoptotic tumor cells were marked by means the immunostain with the anti-ssDNA monoclonal antibody F7-26. The Spearman rank correlation test was used to study the relationship between the degree of CD57-NK-cell infiltration and the apoptosis labelling-index.

**Results:** Positivity to F7-26 was present in all tumor samples, but the number of immunostained cells showed a wide variability, with a mean apoptosis labelling-index of 11.48%. All the studied tumors showed CD57 immunostained cells, with a number that ranged between 4 and 20 per microscopical field, at 200x (mean: 8.4). Statistical studies showed that there was no correlation between the number of CD57 immunostained NK-cells and the apoptosis labelling-index. These findings suggest that CD57+ NK-cells does not play an important role in the immunological defense against brain metastases.

**Key words:** NK-cells, apoptosis, brain metastases, CD57 marker, F7-26 marker.

Vaquero J, Zurita M, Aguayo C, Oya S, Coca S  
Lymphocytary infiltrates of NK-cells and apoptosis in metastatic brain tumors  
Mapfre Medicina, 2004; 15: 44-48

### Fecha de recepción: 17 de diciembre de 2002

*Este estudio ha sido realizado por medio de una Ayuda de Investigación de la Fundación MAPFRE Medicina.*

### INTRODUCCIÓN

Se acepta en la literatura que las células linfocitarias conocidas como *Natural Killer* (NK) desempeñan un importante papel en los mecanismos primarios de defensa inmunológica frente a tumores sólidos (1, 2). Se admite, igualmente, que estas células derivan de una célula progenitora bipotencial T/NK y segregan linfoquinas que influyen en la respuesta inmune (3). Actualmente se admite que las células NK, en presencia de células tumorales, pueden destruir éstas por medio de dos formas de citotoxicidad: por una parte, mediante un mecanismo de secreción, mediado por el sistema de las perforinas/granzinas y, por otra parte, mediante la inducción de apoptosis celular mediada por ligandos de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF). Este segundo mecanismo se ha revelado como el más importante frente a la mayor parte de los tumores sólidos (4-6).

En el caso de los tumores cerebrales se han realizado en los últimos años numerosos estudios, con el propósito de conocer la presencia numérica y el significado de las células NK en el estroma tumoral (7-10). Como consecuencia de estos estudios se conoce que al menos en el 40% de los glioblastomas existen células NK enmascaradas entre las células tumorales, aunque en número escaso y sin relación aparente con el mayor o menor grado de infiltración linfocitaria (9). En el caso de las metástasis cerebrales, los escasos trabajos realizados al respecto muestran que las células NK son más numerosas, pero sin aparente relación con el grado de infiltración linfocitaria (8). Aunque estos hallazgos sugieren que en el sistema nervioso las células NK no desempeñan un papel predominante en los mecanismos inmunológicos de rechazo frente a tumores (7), es obvio que existen datos a favor de que las células NK atacan a los tumores sólidos, independientemente de su localización, por medio de la inducción de apoptosis. Como consecuencia de ello, parece lógico suponer que debe existir una relación entre presencia de células NK en el estroma tumoral y número de células tumorales en apoptosis. Además, es lógico suponer que si existe una relación entre células NK y apoptosis tumoral se puede deducir que la presencia numérica de células NK en el estroma de un determinado tumor podría ser un marcador de pronóstico biológico, tal como se ha señalado hasta ahora, al menos en el caso de carcinomas gástricos (11), o en el caso de carcinomas pulmonares (12).

Teniendo en cuenta la importante infiltración linfocitaria que suele existir en el caso de las me-

tástasis cerebrales, el trabajo desarrollado ha consistido en estudiar en estos tumores si existe una posible relación entre el grado de infiltración linfocitaria tipo células NK y el grado de apoptosis tumoral. En nuestro estudio hemos identificado inmunohistoquímicamente las células NK por medio del marcador de superficie CD57 y hemos identificado las células tumorales en apoptosis por medio de su inmunotinción con el anticuerpo monoclonal F7-26.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha estudiado una serie de 27 metástasis cerebrales procedentes de varios hospitales. Teniendo en cuenta que la apoptosis mediada por células NK parece producirse por la vía de CD95 (Fas/APO1) (7, 9, 11, 13) sólo se seleccionaron aquellos tumores que mostraron de forma inequívoca marcaje inmunohistoquímico citoplasmático para CD95, por lo que la serie final, objeto del presente estudio, se redujo a 20 casos. Estos tumores fueron obtenidos mediante extirpación quirúrgica y pertenecían a 17 varones (85%) y 3 mujeres (15%), con edades comprendidas entre 42 y 76 años (edad media de 62 años).

De cada uno de los tumores se procesó un corte histológico para su tinción con la técnica de hematoxilina-eosina (HE) con objeto de estudiar el patrón histológico del tumor y el grado de infiltración linfocitaria en general. Otros dos cortes histológicos fueron procesados para el marcaje inmunohistoquímico de CD57 y F7-26. Como pasos más destacados de la técnica cabe señalar que en un primer momento, los cortes histológicos se desparafinaron mediante tratamiento con xilol, y se rehidrataron en alcoholes con gradación creciente, para luego ser lavados en PBS, pH 7,4. Más tarde se sometieron a tratamiento con tripsina y fueron lavados de nuevo en PBS. Se sometieron luego a la acción de una solución de buffer-citrato (pH 6,0) durante diez minutos en microondas y sumergidos luego en peróxido de hidrógeno al 3% en metanol, durante 15 minutos, antes de ser lavados de nuevo en PBS.

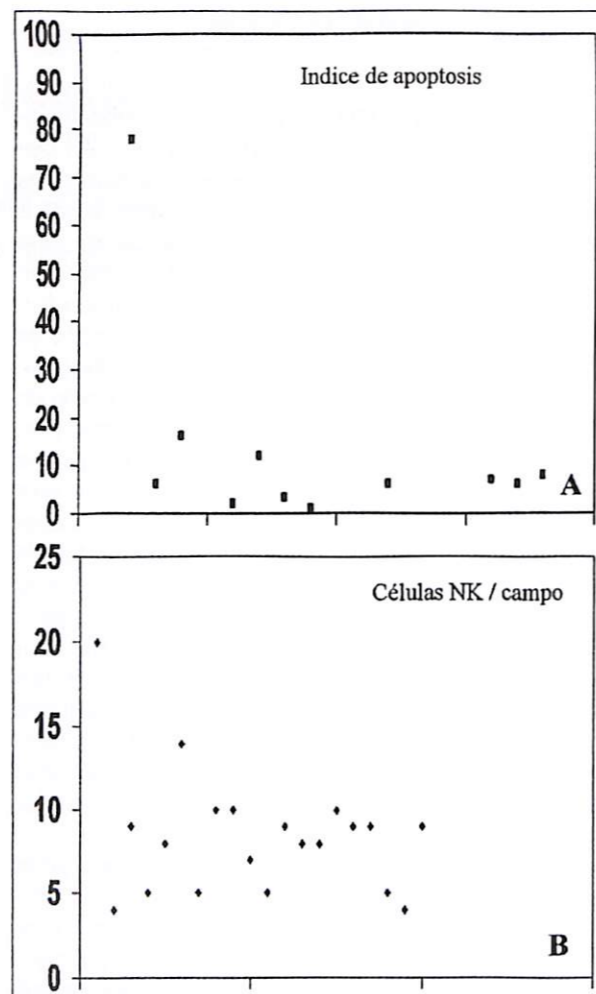
Para la detección de células en apoptosis se utilizó el anticuerpo monoclonal F7-26 (1:100, Alexis Biochemicals Corporation, USA) y para la identificación de células NK el anticuerpo monoclonal CD57 (1:100, Master Diagnostics, Granada, España). Estos anticuerpos se dejaron actuar durante una noche a 4 °C en cámara húmeda y los cortes fueron lavados de nuevo en PBS. Se sometieron a incubación durante 30 minutos con el anticuer-

po secundario biotinilado a 37 °C, y después fueron lavados de nuevo en PBS. Siguió una nueva incubación durante 30 minutos con el complejo estreptoavidina-peroxidasa a 37 °C y se sometieron a la acción del cromógeno (diaminobencidina). A continuación, los cortes fueron contrastados con hematoxilina, montados y examinados al microscopio. En todos los casos se utilizaron controles negativos, utilizando suero fisiológico de conejo en sustitución del anticuerpo primario.

En cada tumor se determinó un índice de apoptosis, definido como el porcentaje de células marcadas con F7-26 por cada 1.000 células tumorales. Además, se determinó en cada tumor el número de células marcadas con CD57, para lo cual se contaron dichas células al menos en diez campos microscópicos tomados al azar, a un aumento de 200x, recogiendo la media del número de células marcadas en los diferentes campos examinados. Estas determinaciones se hicieron con ayuda de un morfómetro de imágenes y una aplicación tipo macro (Optimas Corporation, Bothell, WA, USA) y fueron realizadas por dos investigadores entrenados en este tipo de recuentos. Aunque se observó un alto grado de similitud en los recuentos, se tomó como valor definitivo el valor medio recogido por ambos observadores. Se estudió, por último, en los tumores de la serie, la posible correlación entre el número de células NK por campo y el índice de apoptosis utilizando el test de correlación de Spearman. El estudio estadístico fue realizado con ayuda del programa informático InStat (v 1.01, GraphPad Software Inc, San Diego, CA) considerándose como significativo un valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

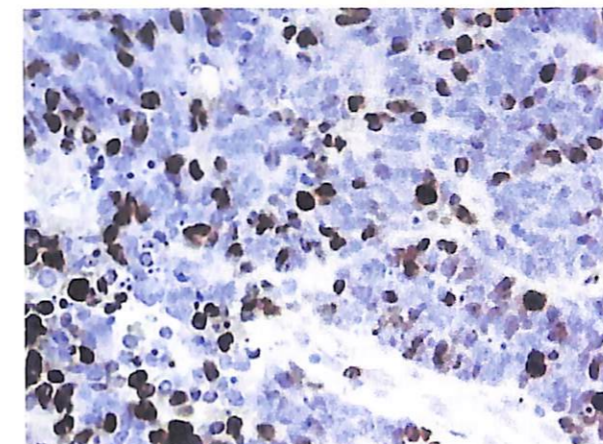
En la serie estudiada, el origen de las metástasis cerebrales fue el pulmón en 12 casos (nueve adenocarcinomas y tres epidermoides), la mama (tres casos de adenocarcinoma), un carcinoma renal, la piel (un caso de melanoma) y en tres casos se trataba de carcinomas indiferenciados, de origen desconocido. En todos los casos el estudio histológico convencional mostró un grado variable de infiltración linfocitaria en el estroma tumoral, entre las células neoplásicas. En todas las metástasis de la serie se apreciaron células tumorales marcadas con F7-26, pero los valores del índice de apoptosis oscilaron entre límites muy amplios, con un valor medio  $\pm$  desviación estándar de  $11,48 \pm 16,4$  (Figura 1A). Con respecto a la presencia de células NK, identificadas por su marca-



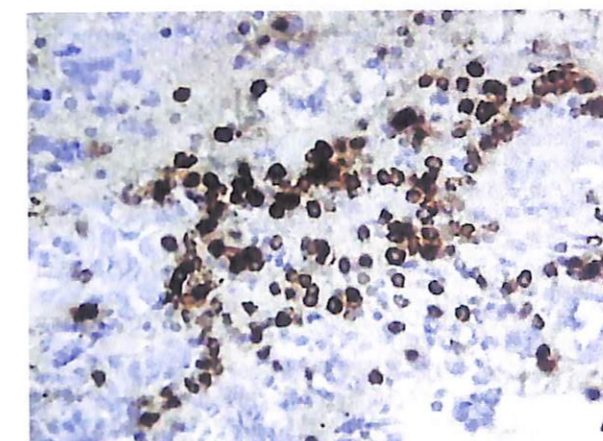
**Figura 1.** Distribución de los valores del índice de apoptosis y células NK, CD57-positivas en los tumores de la serie. **A:** El índice de apoptosis varió entre el 1% y el 78%, con un valor medio  $\pm$  desviación estándar de  $11,4 \pm 16,4$ . **B:** El número medio de células NK por campo microscópico, a 200x osciló entre 4 y 20, con un valor medio  $\pm$  desviación estándar de  $8,4 \pm 3,7$ .

je con CD57, también se identificaron, en mayor o menor número, en todos los casos de la serie. Su número osciló entre 4 y 20 por campo, a 200x (valor medio  $\pm$  desviación estándar:  $8,4 \pm 3,7$ ) (Figura 1B). Estas células generalmente se identificaban rodeando a los vasos intratumorales y en el estroma, entre las células neoplásicas. Las Figuras 2, 3 y 4 muestran ejemplos de marcaje inmunohistoquímico de células tumorales en apoptosis y de linfocitos tipo NK, CD57<sup>+</sup>, en algunos tumores de la serie.

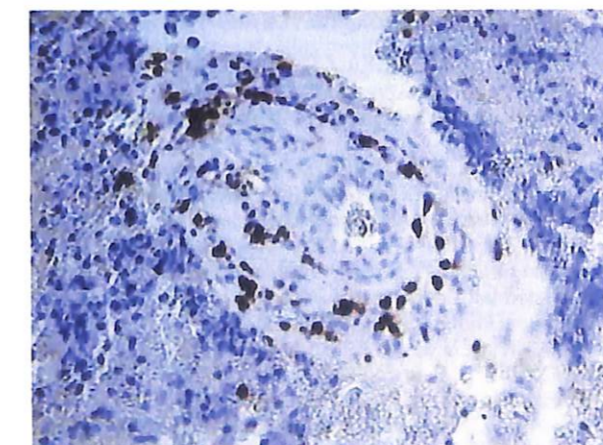
Los estudios estadísticos mostraron que en la serie de tumores estudiada no existía correlación entre el número de células NK, CD57<sup>+</sup> presentes en el tejido tumoral y el índice de apoptosis ( $p: 0,85; r: -0,045$ ) (Figura 5).



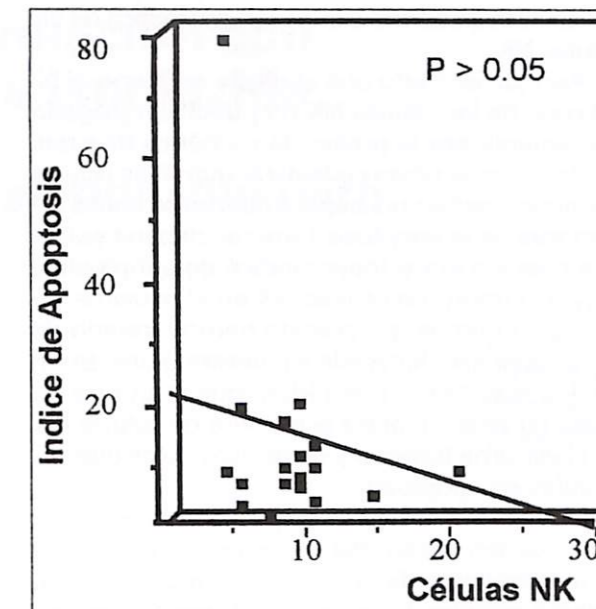
**Figura 2.** Células tumorales en apoptosis, identificadas por el marcaje nuclear con F7-26, en una metástasis de la serie (x200).



**Figura 3.** Células NK identificadas por su marcaje con CD57, entre las células tumorales, en una metástasis de la serie estudiada (x200).



**Figura 4.** Células NK perivasculares identificadas por su marcaje nuclear con CD57, en una metástasis cerebral de la serie estudiada (x200).



**Figura 5.** Gráfica que muestra la ausencia de correlación entre el índice de apoptosis y el número de células NK por campo en los tumores de la serie estudiada ( $p: 0,85; r: -0,045; 95\% \text{ IC: } -0,48 \text{ a } 0,41$ ).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio hemos detectado las células NK por medio del marcaje con CD57. Las células tumorales en apoptosis fueron identificadas por medio de la expresión nuclear de F7-26. Este marcador detecta células en apoptosis antes de que ocurra fragmentación internucleosomal, y actualmente se considera que es altamente específico, por cuanto que no marca células en necrosis (13-16).

Se acepta, por lo general, que los fenómenos de citotoxicidad mediada por células NK frente a tumores tienen lugar fundamentalmente por medio de la inducción de apoptosis en las células del tumor (4-6, 17) y, aunque es conocido que las células NK son muy heterogéneas y pueden actuar de diferentes modos, se ha descrito que su mayor o menor presencia en el estroma tumoral puede tener significado pronóstico, al menos en algunos tipos de carcinomas (11, 12). Por otra parte, hemos seleccionado para nuestro presente estudio tumores con conocida expresión de CD95 (Fas/APO1), una glicoproteína que forma parte de la superfamilia del TNF/receptor para el factor de crecimiento nervioso y que ha sido implicada recientemente en el proceso inductor de la apoptosis tumoral mediada por células NK (4-6, 17-19). En nuestra serie, la positividad de CD95 (Fas/APO1) en los tumores estudiados permite supo-

ner su susceptibilidad a la acción apoptótica de las células NK.

Aunque es cierto que el efecto antitumoral citotóxico de las células NK no puede ser juzgado únicamente por la presencia numérica de estas células, parece obvio considerar que si las células NK desempeñan un papel importante como inductoras de la apoptosis tumoral, debería existir una relación entre mayor índice de apoptosis y mayor número de células NK en el estroma tumoral. Sin embargo, cuando hemos tratado de comprobar esta hipótesis en nuestra presente serie, los resultados obtenidos muestran que no existe correlación entre el número de células NK en el estroma tumoral y el número de células tumorales en apoptosis.

Independientemente de que las células tumorales pueden desarrollar mecanismos de escape para defenderse de la apoptosis inducida por el sistema inmune, tal como se ha descrito recientemente en diversos tipos de carcinomas (20, 21), e incluso en gliomas malignos (22-26), es obvio que nuestros resultados sugieren que las células NK no desempeñan un papel destacado en los mecanismos naturales de rechazo inmunológico frente a la presencia de un tumor cerebral metastásico. Este hallazgo nos lleva a considerar que en estos tumores, los fenómenos de apoptosis pueden ser inducidos por células mononucleares del estroma tumoral, diferentes de las propias células NK.

## BIBLIOGRAFÍA

1. TRANCHIERI G. Biology of human natural killer cells. *Adv Immunol.* 1989; 47: 187-376.
2. TRINCHIERI G, PERUSSIA B. Human natural killer cells: Biologic and pathologic aspects. *Lab Invest.* 1984; 50: 489-513.
3. SPITS H, LANIER L L, PHILLIPS J H. Development of human T and natural killer cells. *Blood.* 1995; 85: 2654-2670.
4. KASHI Y, GIORDA R, HERBERMAN R B, WHITESIDE T L, VUJANOVIC N L. Constitutive expression and role of the TNF family ligands in apoptotic killing of tumor cells by human NK cells. *J Immunol.* 1999; 163: 5358-5366.
5. SCREPANTI V, WALLIN R P, LJUNGRGREN H G, GRANDIEN A. A central role for death receptor-mediated apoptosis in the rejection of tumors by NK cells. *J Immunol.* 2001; 167: 2068-2073.
6. VUJANOVIC N L. Role of TNF family ligands in antitumor activity of natural killer cells. *Int Rev Immunol.* 2001; 20: 415-437.
7. STEVENS A, KLÖTER I, ROGGENDORF W. Inflammatory infiltrates and natural killer cell presence in human brain tumors. *Cancer.* 1988; 61: 738-743.
8. VAQUERO J, COCA S, ESCANDÓN J, MAGALLÓN R, MARTÍNEZ R. Immunohistochemical study of IOT-10 natural killer cells in brain metastases. *Acta Neurochir (Wien).* 1990; 104: 17-20.
9. VAQUERO J, COCA S, OYA S, MARTÍNEZ R, RAMIRO J, SALAZAR F G. Presence and significance of NK-cells in glioblastoma. *J Neurosurg.* 1989; 70: 728-731.
10. ZURITA M, VAQUERO J, COCA S, OYA S, GARCÍA N. Tumor-infiltrating lymphocytes expressing IOT-10 marker. An immunohistochemical study of a series of 185 brain tumors. *Histol Histopath.* 1993; 8: 345-350.
11. ISHIGAMI S, NATSUGOE S, TOKUDA K, NAKAJO A, CHE X, IWASHIGE H, ARIDOME K, HOKITA S, AIKOU T. Prognostic value of intratumoral natural killer cells in gastric carcinoma. *Cancer.* 2000; 88: 577-583.
12. VILLEGAS F R, COCA S, VILLARUBIA V G, JIMÉNEZ R, CHILLÓN M J, JAREÑO J, ZUIL M, CALOL L. Prognostic significance of tumor infiltrating natural killer cells subset CD57 in patients with squamous cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2002; 35: 23-28.
13. FERLINI C, KUNKL A, SCAMBIA G, FATTOROSI A. The use of apostain in identifying early apoptosis. *J Immunol Methods.* 1997; 205: 95-101.
14. FRANKFURT O S, ROBB J A, SUGARBAKER E V, VILLA L. Monoclonal antibody to single-stranded DNA is a specific and sensitive cellular marker of apoptosis. *Exp Cell Res.* 1996; 226: 387-397.
15. TSAI Y M, ANSEVIN A T, HNILICA L S. Association of tissue-specific histones with deoxyribonucleic acid. Thermal denaturation of native, partially dehistonized and reconstituted chromatin. *Biochemistry.* 1989; 14: 1257-1265.
16. ZUNINO S J, SINGH M K, BASS J, PICKER L J. Immunodetection of histone epitopes correlates with early stages of apoptosis in activated human peripheral T-lymphocytes. *Am J Pathol.* 1996; 149: 653-663.
17. WARREN H, SMYTH M J. NK cells and apoptosis. *Immunol Cell Biol.* 1999; 77: 64-75.
18. NAGATA S. Apoptosis by death factor. *Cell.* 1997; 88: 355-365.
19. NAGATA S, GOLDSTEIN P. The Fas death factor. *Science.* 1994; 267: 1449-1456.
20. KOYAMA S, KOIKE N, ADACHI S. Fas receptor counterattack against tumor-infiltrating lymphocytes in vivo as a mechanism of immune escape in gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2001; 127: 20-26.
21. MULLAUER L, MOSBERGER I, GRUSCH M, RUDAS M, CHOTT A. Fas ligand is expressed in normal breast epithelial cells and is frequently up-regulated in breast cancer. *J Pathol.* 2000; 190: 20-30.
22. DIDENKO V V, NGO H N, MINCHEW C, BASKIN D S. Apoptosis of T lymphocytes invading glioblastomas multiforme: a possible tumor defense mechanism. *J Neurosurg.* 2002; 96: 580-584.
23. ICHINOSE M, MASUOKA J, SHIAISHI T, MINETA T, TABUCHI K. Fas ligand expression and depletion of T-cell infiltration in astrocytic tumors. *Brain Tumor Pathol.* 2001; 18: 37-42.
24. MORFOD L A, DIX A R, BROOKS W H, ROSZMAN T L. Apoptotic elimination of peripheral lymphocytes in patients with primary intracranial tumors. *J Neurosurg.* 1999; 91: 935-946.
25. PRINS R M, GRAF M R, MERCHANT R E. Cytotoxic T cells infiltrating a glioma express and aberrant phenotype that is associated with decreased function and apoptosis. *Cancer Immunol Immunother.* 2001; 50: 285-292.
26. WISCHHUSEN J, JUNG G, RADOVANOVIC I, BEIER C, STEINBACH J P, RIMNER A, HUANG H, SCHULZ J B, OHGAKI H, AGUZZI A, RAMMENSEE H G, WELLER M. Identification of CD70-mediated apoptosis of immune effector cells as a novel immune escape pathway of human glioblastoma. *Cancer Res.* 2002; 62: 2592-2599.

## Fenotipo acetilador y su relación con la toxicidad hepática de la isoniazida

### Acetylator phenotype and relationship with hepatotoxicity of isoniazid

Departamento de Farmacología  
Facultad de Medicina  
Universidad de Valladolid

Zayed M. R.  
Velasco A.  
Pastrana F.  
Marañón A.

## RESUMEN

Se determina el fenotipo acetilador en un grupo de 128 sujetos representativos de la población de Castilla y León, una vez conocidas las proporciones de sulfametacina libre y acetilada en plasma y orina. Un 34,37% de los sujetos de nuestra serie eran acetiladores rápidos y un 65,63% acetiladores lentos. La hepatotoxicidad de la isoniazida determinada clínica, bioquímica y anatomopatológicamente es significativamente superior ( $p < 0,001$ ) en los acetiladores rápidos. La asociación a la isoniazida de rifampicina y pirazinamida en los sujetos acetiladores rápidos produjo hepatitis tóxicas severas ( $p < 0,03$ ) e incluso un fracaso hepático agudo mortal.

**Palabras clave:** Fenotipo acetilador, isoniazida, hepatotoxicidad.

Zayed M R, Velasco A, Pastrana F, Marañón A  
Fenotipo acetilador y su relación con la toxicidad hepática de la isoniazida  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 49-52

## Correspondencia:

A. Velasco Martín  
Cátedra de Farmacología  
Facultad de Medicina  
Avda. Ramón y Cajal, 7  
47005 Valladolid

## ABSTRACT

After knowing the proportions of free and acetylated sulfamethazine, phenotype acetylator was determined in a representative sample of 128 individuals from Castilla y León (Spain); 34,37% of the individuals revealed as fast acetylators and 65,63% as slow acetylators. Isoniazid-induced hepatotoxicity was significantly higher in those fast acetylators ( $p < 0.001$ ), when combined with rifampicin and pyrazinamide, isoniazid produce severe toxic hepatitis in fast acetylators ( $p < 0.03$ ) and a fatal case of acute hepatic failure.

**Key words:** Acetylator phenotype, isoniazid, hepatotoxicity.

Zayed M R, Velasco A, Pastrana F, Marañón A  
Acetylator phenotype and relationship with hepatotoxicity of isoniazid  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 49-52

Fecha de recepción: 1 de abril de 2003

**INTRODUCCIÓN**

La isoniazida es un fármaco de primer orden en el tratamiento de la tuberculosis que se metaboliza principalmente por N-acetilación hepática por medio de la enzima N-acetiltransferasa. Los individuos pueden clasificarse en acetiladores rápidos y acetiladores lentos. La transmisión del patrón lento es autosómica recesiva. Este polimorfismo afecta a otros fármacos como las sulfonamidas, la hidralacina, la fenelcina, la dapsona y la procainamida, entre otros. En los tratamientos con isoniazida hay que tener en cuenta que el fenotipo acetilador modula la incidencia de efectos indeseados durante el tratamiento (1).

Inicialmente se sugirió que la hepatotoxicidad de la isoniazida se debería a un mecanismo de hipersensibilidad (2), pero desde hace años se dispone de evidencia suficiente para asegurar que la mayoría de los efectos indeseables de la isoniazida se deben a un mecanismo tóxico directo (3, 4). Sin embargo, la asociación entre el fenotipo acetilador y la hepatotoxicidad de la isoniazida no está claramente establecida y es objeto de debate (5). En este trabajo se ha evaluado esta asociación correlacionando la toxicidad hepática de la isoniazida con el fenotipo acetilador en 98 pacientes tuberculosos de Castilla y León tratados con este principio activo.

**MATERIAL Y MÉTODO**

Durante 1993 se estudiaron tres agrupaciones de individuos de un total de 128: a) 52 pacientes tuberculosos confirmados por bacteriología, b) 46 pacientes infectados de tuberculosis tuberculino-positivos, y c) 30 sujetos sanos controles. Ninguno recibía medicación previa al estudio y fueron descartados previamente sujetos infectados por virus de la hepatitis o de inmunodeficiencia humana, así como aquellos sujetos que habían consumido drogas de abuso, había parecido hepatopatía, enfermedad intestinal, renal o cardíaca que pudiera afectar al metabolismo de la sulfametacina. A todos los sujetos antes del tratamiento se les administró sulfametacina, obteniéndose una muestra de plasma seis horas después y dos de orina, una emitida a las cinco y otra a las seis horas. La sulfametacina libre y acetilada fue determinada por el método de Bratton y Marshall (6) y la determinación del fenotipo acetilador por el método de Evans (7). Los acetiladores rápidos tienen más del 75% acetilsulfametacina en orina y más del 45%

en plasma, mientras los sujetos acetiladores lentos no alcanzan esos valores. Conocido el carácter acetilador se procedió al tratamiento; el grupo a recibió isoniazida (8 mg/kg de peso/día), rifampicina (12 mg/kg de peso/día) y piracinamida (30 mg/kg de peso/día) durante ocho semanas por vía oral; el grupo b recibió isoniazida (8 mg/kg de peso/día) por vía oral durante 36 semanas y el grupo c no recibió medicación.

Se utilizaron los criterios de toxicidad hepática de la isoniazida introducidos por Timbrell y cols. (8) y se efectuaron los correspondientes estudios clínico, bioquímico y anatomopatológico. Para el contraste estadístico de los resultados se recurrió a un análisis de la varianza.

**RESULTADOS**

1. Respuesta bioquímica a la sulfametacina. Los porcentajes de acetilsulfametacina en plasma y orina fueron dosificados en todos los pacientes: 44 (34,37%) eran acetiladores rápidos y 84 (65,63%) lentos (Figura 1). Para el análisis de la distribución en la población se realizó una transformación logarítmica de ambas variables, con el fin de obtener un mejor ajuste a una distribución normal, observándose una distribución bimodal en la rapidez de acetilación de la sulfametacina (Figura 2).

2. Funcionamiento hepático. Todos los pacientes antes del tratamiento presentaron un estado de normofunción hepática. Durante y después del tratamiento analizados los indicadores de hepatotoxicidad se observó que 119 sujetos (93%) eran asintomáticos con discretas elevaciones del GOT y GPT; se detectaron manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad con transaminasas elevadas en

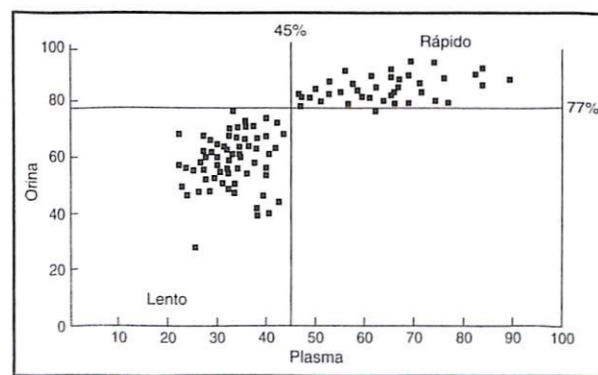


Figura 1. Distribución de los 128 sujetos de acuerdo con el porcentaje de sulfametacina acetilada en el plasma y en la orina.

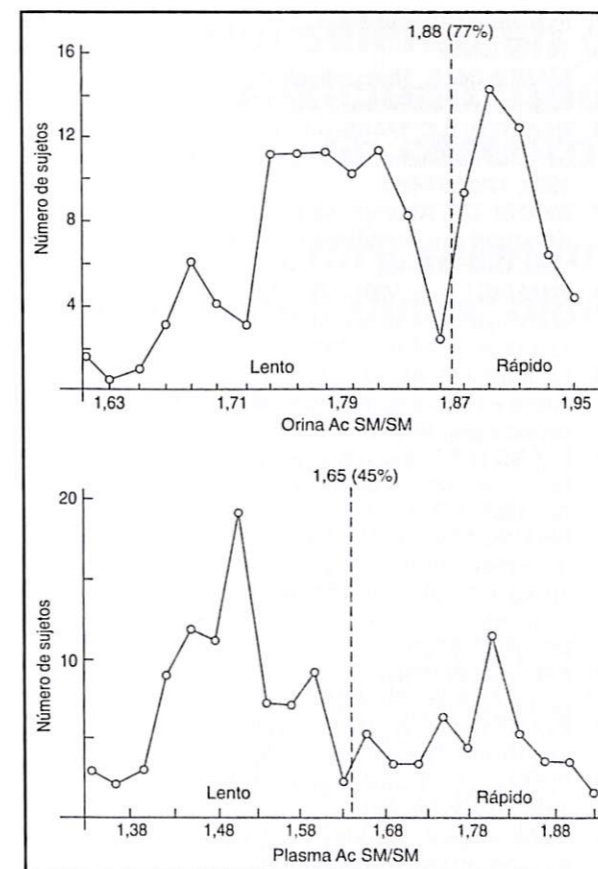


Figura 2. Distribución de los 128 pacientes de acuerdo con el cociente acetilsulfametacina/sulfametacina (A) en orina y (B) en plasma.

seis sujetos (4,7%) y con elevación de tres veces el valor normal en dos sujetos (1,6%) y, por último, uno de los pacientes (0,8%) murió de hepatitis fulminante (Tabla I). Al evaluar la condición de acetilador se observa que ningún acetilador lento elevó las transaminasas más de tres veces su valor normal y las manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad eran mínimas; los acetiladores rápidos elevaron las transaminasas por encima de tres veces su valor normal con importantes manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad.

El estudio ultraestructural hepático por microscopía electrónica puso de manifiesto un importante deterioro anatomopatológico hepático en los pacientes estudiados consistente en la aparición de múltiples granulomas asociados a necrosis centrolobulillar.

**DISCUSIÓN**

El estudio de la acetilación hepática se efectuó en 128 sujetos representativos de la población

**TABLA I. Manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad**

Hepatotoxicidad frecuencia	Manifestaciones clínicas (intensidad)				Total
	0	1	2	3	
0*	74	0	0	0	74
1*	45	0	0	0	45
2**	0	6	0	0	6
3***	0	0	2	0	2
4****	0	0	0	1	1
Total	119	6	2	1	128

\* Pacientes asintomáticos y elevación de las transaminasas inferior a tres veces su valor normal.  
 \*\* Pacientes con manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad y elevación de las transaminasas inferior a tres veces su valor normal.  
 \*\*\* Pacientes con manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad y elevación de las transaminasas tres veces su valor normal.  
 \*\*\*\* Pacientes con manifestaciones clínicas de hepatotoxicidad y elevación de las transaminasas tres veces su valor normal, ictericia y fallo hepático agudo.

castellano-leonesa de edades comprendidas entre los 10 y 75 años de edad, de los cuales el 57,5% eran mujeres y el 42,5% eran varones. De ellos, 116 (90,6%) habían nacido en la comunidad de Castilla y León y la procedencia de sus padres en el 90% de los casos era la misma región. Los 12 sujetos restantes (9,4%) presentaban un origen de nacimiento variado. Por ello consideramos que nuestro estudio es representativo del conjunto de la población castellano-leonesa y, justifica las diferencias existentes en los porcentajes de acetilación rápida de la sulfametacina, entre la población de nuestra región, 34,37% de acetiladores rápidos y el 65,63% de acetiladores lentos y, la española, obtenida por Ladero y cols. (9): 42,7% de acetiladores rápidos y 57,3% de acetiladores lentos. No obstante, los resultados obtenidos fueron muy similares a los originales obtenidos por otros autores en el Reino Unido, Finlandia y Estados Unidos (10-14). Utilizando el método de la sulfametacina y la proporcionalidad de la misma en el plasma y en la orina establecida por Viznerova (15) fue posible establecer el fenotipo de todos los sujetos de nuestra serie. Existe una distribución bimodal en la rapidez de inactivación de la sulfametacina en nuestro grupo de individuos (Figura 2).

La relación entre la presencia de fenotipo acetilador lento o rápido y la hepatotoxicidad de la isoniazida ha sido objeto de diversos trabajos, con resultados contradictorios, y que hacen que no se pueda concluir la presencia o ausencia de asociación (5). En este sentido, algunos autores no han encontrado relación entre el patrón acetilador y la presencia de hepatotoxicidad (16, 17), si bien otros estudios parecen sugerir lo contrario (18, 19). Los

resultados que se presentan en este trabajo confirman los resultados de los clásicos estudios de Mitchell y cols. (4) —que muestran un porcentaje significativo de hepatitis por isoniazida en acetiladores rápidos frente a los lentos— y como la asociación a isoniazida de rifampicina y piracinamida incrementa su hepatotoxicidad.

El fenotipo acetilador modula la incidencia de efectos no deseados durante el tratamiento con fármacos que como la isoniazida necesitan la N-acetiltransferasa para su inactivación. Por ello es aconsejable determinar el fenotipo acetilador en todo sujeto que deba ser tratado con isoniazida. En todo caso, la amplia utilización actual de isoniazida junto con la gravedad de estas reacciones sugieren la realización de estudios que permitan avanzar en el conocimiento de esta relación.

### CONCLUSIÓN

El presente estudio demuestra el predominio de acetiladores lentos frente a los rápidos ( $p < 0,001$ ). El grado de hepatotoxicidad presentado por los pacientes sólo tuvo significación estadística con la condición de acetilador rápido ( $p < 0,001$ ). Los acetiladores rápidos se comportan frente a los lentos de forma significativa en cuanto al grado de hepatotoxicidad, lo mismo en el grupo de enfermos ( $p < 0,026$ ) que en el de quimioprofilaxis ( $p < 0,001$ ).

### BIBLIOGRAFÍA

- ELLARD G A, GAMMON P T. Acetylator phenotyping of tuberculosis patients using matrix isoniazid or sulphadiazine and its prognostic significance for treatment with several intermittent isoniazid-containing regimens. *Br J Clin Pharmacol.* 1977; 4 (1): 5-14.
- BICKERS J K, BUECHNER H A, HOOD B J, ÁLVAREZ CHIESA G. Hypersensitivity reactions to antituberculosis drugs with hepatitis, lupus phenomenon and myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1961; 265: 131-134.
- MADDREY W C, BOITNOTT J K. Isoniazid hepatitis. *Ann Intern Med.* 1973; 79 (1): 1-12.
- MITCHELL J R, THORGEIRSSON U P, BLACK M, TIMBRELL J A, SNODGRASS W R, POTTER W Z, JOLLO H R, KEISER H R. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation

to hydranize metabolites. *Clin Pharmacol Ther.* 1975; 18 (1): 70-79.

- MARTINDALE. *The complete drug reference.* Londres: Pharmaceutical Press, 2002; 3.<sup>a</sup> ed.
- BRATTON A C, MARSHALL E K. A new coupling reagent for sulfanilamide determination. *J Biol Chem.* 1939; 128: 537-550.
- EVANS DA. An improved and simplified method of detecting the acetylator phenotype. *J Med Genet.* 1969; 6 (4): 405-407.
- TIMBRELL J A, WRIGHT J M, BAILLIE T A. Monoacetylhydrazine as a metabolite of isoniazid in man. *Clin Pharmacol Ther.* 1977; 22 (5 Pt 1): 602-608.
- LADERO J M, ARROJO A, GILSANZ V. Acetilación hepática en la población española. *Gastroenterología y hepatología.* 1979; 2: 15-23.
- EVANS D A P. Individual variations of drug metabolism as a factor in drug toxicity. *Ann New York Acad Sci.* 1965; 123: 178-187.
- RELLING M V, EVANS W E. Genetic polymorphisms of drug metabolism. En: W E Evans, J J Schetlag, W J Jusko (eds), *Applied pharmacokinetics: Principles of therapeutic monitoring.* Vancouver Applied Therapeutics, 1992; 3.<sup>a</sup> ed.
- KALLOW W. *Pharmacogenetics: heredity of the response to drugs.* Philadelphia: W B Saunders Co, 1962.
- EVANS D A P, WHITE T A. Human acetylation polymorphism. *J Lab Clin Med.* 1964; 63: 394-403.
- VESELL E S. Pharmacogenetics. *Biochem Pharmacol.* 1975; 24 (4): 445-450.
- VIZNEROVA A, SLAVIKOVA Z, ELLARD G A. The determination of the acetylator phenotype of tuberculosis patients in Czechoslovakia using sulphadiazine. *Tubercle.* 1973; 54 (1): 67-71.
- GURUMURTHY P, KRISHNAMURTHY M S, NAZARETH O, PARTHASARATHY R, SARMA G R, SOMASUNDARAM P R, TRIPATHY S P, ELLARD G A. Lack of relationship between hepatic toxicity and acetylator phenotype in three thousand South Indian patients during treatment with isoniazid for tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1984; 129 (1): 58-61.
- SINGH J, GARG P K, THAKUR V S, TANDON R K. Anti tubercular treatment induced hepatotoxicity: does acetylator status matter? *Indian J Physiol Pharmacol.* 1995; 39 (1): 43-46.
- OHNO M, YAMAGUCHI I, YAMAMOTO I, FUKUDA T, YOKOTA S, MAEKURA R, ITO M, YAMAMOTO Y, OGURA T, MAEDA K, KOMUTA K, IGARASHI T, AZUMA J. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000; 4 (3): 256-261.
- HUANG Y S, CHERN H D, SU W J, WU J C, LAI S L, YANG S Y, CHANG F Y, LEE S D. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology.* 2002; 35 (4): 883-889.

## Efecto del selenio en dieta sobre la neurotoxicidad inducida por MDMA («éxtasis») en cerebro de ratón

### Effect of dietary selenium on MDMA («ecstasy»)-induced neurotoxicity in brain mouse

Departamento de Farmacología  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense  
Madrid

Colado Megía M. I.  
Sánchez Sánchez V.  
Camarero Jiménez J.  
O'Shea Gaya E.

#### RESUMEN

Se ha estudiado el efecto del selenio en la dieta sobre los efectos a largo plazo inducidos por MDMA sobre las neuronas que contienen dopamina y serotonina en el cerebro del ratón. Los animales fueron alimentados con una dieta deficiente en selenio ( $< 0,02$  mg/kg) o suplementada en selenio (0,2 mg/kg) durante ocho semanas. En la séptima semana, los ratones recibieron tres inyecciones de MDMA (15 mg/kg, i.p. cada tres horas) o salino y se sacrificaron siete días más tarde. La administración de MDMA produjo una disminución en la concentración estriatal de dopamina en ambos grupos dietéticos, aunque la depleción fue considerablemente mayor en ratones selenio-deficientes (64%) que en los suplementados en selenio (30%). Además se observó una reducción en la concentración de serotonina (17-32%) en el cerebro de ratones selenio-deficientes pero no en los suplementados en selenio. No hubo diferencia en la respuesta hipertérmica inducida por MDMA en ambos grupos dietéticos. La dieta selenio-deficiente originó una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa (30%) en estriado y corteza de ratón y un incremento en el grado de peroxidación lipídica en sinaptosomas corticales. Estos resultados indican que una deficiencia en el contenido de selenio en la dieta altera el mecanismo de detoxificación del cerebro del ratón y potencia la neurotoxicidad inducida por MDMA.

**Palabras clave:** Selenio, éxtasis, glutatión peroxidasa, dopamina, serotonina, neurotoxicidad.

Colado Megía M I, Sánchez Sánchez V, Camarero Jiménez J, O'Shea Gaya E  
Efecto del selenio en dieta sobre la neurotoxicidad inducida por MDMA («éxtasis») en cerebro de ratón  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 53-62

#### Correspondencia:

M.<sup>a</sup> Isabel Colado Megía  
Departamento de Farmacología  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense  
Avda. Complutense s/n  
28040 Madrid

#### ABSTRACT

We examined the effect of dietary selenium (Se) on the long-term effect of MDMA on dopamine and 5-HT containing neurons in the brain of mice. Animals were fed either a Se-deficient ( $< 0.02$  mg/kg) or Se-replete (0.2 mg/kg) diet for eight weeks. On the seventh week mice received three injections of MDMA (15 mg/kg, i.p., three hours apart) or saline. All animals were sacrificed seven days later. MDMA administration depleted striatal dopamine concentration in both dietary groups, although depletion was considerably larger in the Se-deficient mice (64%) than Se-replete mice (30%). In addition, a decrease in 5-HT (17-32%) occurred in brain regions of Se-deficient but not Se-replete mice. There was no difference in the hyperthermic response induced by MDMA in Se-deficient or Se-replete animals. The Se-deficient diet decreased glutathione peroxidase (GPx) activity by 30% in mouse striatum and cortex and increased the degree of lipid peroxidation in cortical synaptosomes. These results indicate that Se-deficiency impairs the cellular antioxidant status of the mouse brain and that this effect exacerbates the neurotoxicity induced by MDMA.

**Key words:** Selenium, ecstasy, glutathione peroxidase, dopamine, serotonin, neurotoxicity.

Colado Megía M I, Sánchez Sánchez V, Camarero Jiménez J, O'Shea Gaya E  
Effect of dietary selenium on MDMA («ecstasy»)-induced neurotoxicity in brain mouse  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 53-62

**Fecha de recepción:** 20 de diciembre de 2002

## INTRODUCCIÓN

La administración de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA, «éxtasis») en el ratón produce, a largo plazo, un efecto neurotóxico selectivo sobre las vías dopaminérgicas nigro-estriatales, ejerciendo poco efecto sobre las neuronas que contienen serotonina (1-5). La neurotoxicidad de MDMA se ha demostrado utilizando técnicas bioquímicas y se manifiesta mediante una disminución en la concentración de dopamina y sus metabolitos, los ácidos 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y homovanílico (HVA) en el estriado. Esta reducción en el contenido catecológico inducida por la droga en el estriado del ratón probablemente refleja una degeneración neurotóxica de los terminales nerviosos dopaminérgicos similar a la que se observa tras la administración de metanfetamina en la rata y en el ratón (6-11).

Existen relativamente pocos estudios orientados a evaluar los mecanismos implicados en el efecto neurotóxico de MDMA sobre las neuronas dopaminérgicas del estriado de ratón. No obstante, la evidencia experimental disponible indica que la neurotoxicidad de MDMA en el ratón se debe a un proceso de estrés oxidativo que se inicia inmediatamente después de la administración de la droga. Así, se ha demostrado que inhibidores de la óxido nítrico sintasa neuronal previenen el daño neuronal y el incremento en la formación de radicales hidroxilo inducidos por MDMA (4). Además, ratones transgénicos que sobreexpresan la enzima CuZn superóxido dismutasa son resistentes a la acción neurotóxica de MDMA (12). Por otra parte, MDMA provoca una disminución en la actividad de la superóxido dismutasa y de la glutatión peroxidasa y un incremento en el grado de peroxidación lipídica en diversas estructuras cerebrales (13). Datos más directos han sido obtenidos recientemente en nuestro laboratorio, donde, utilizando la técnica de la microdiálisis intracerebral *in vivo*, hemos demostrado que la MDMA incrementa la conversión de ácido salicílico a ácido 2,3-dihidroxibenzoico (2,3-DHBA) en el dializado estriatal (4, 14). Esta medida es un método ampliamente aceptado para cuantificar la formación de radicales hidroxilo (15-17) e indica que la MDMA aumenta la formación de radicales libres en esta región cerebral (18).

El selenio y otros antioxidantes, tales como el ácido ascórbico protegen a las neuronas estriatales del daño inducido por las neurotoxinas 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) y metanfetamina (19-24). El selenio es un micronutriente que está presente en alta proporción en algunos

alimentos de la dieta de los mamíferos, tales como el brécol y forma parte del centro activo de la enzima glutatión peroxidasa y de varias enzimas selenio-dependientes. Concretamente, la glutatión peroxidasa contiene un residuo de selenocisteína en su centro activo que es esencial para su actividad peroxidasa. Por tanto, la actividad de la glutatión peroxidasa es altamente sensible al contenido de selenio en la dieta, de tal manera que existe una alta correlación entre la actividad de la glutatión peroxidasa, los niveles de selenio en la dieta y la resistencia al estrés oxidativo (25). La glutatión peroxidasa junto con catalasa y superóxido dismutasa son los principales sistemas antioxidantes celulares frente a la formación de radicales libres. La superóxido dismutasa cataliza la dismutación del anión superóxido a peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (26, 27) mientras que glutatión peroxidasa y catalasa utilizan glutatión para reducir el peróxido de hidrógeno a agua (H<sub>2</sub>O).

En este trabajo se ha examinado la influencia del selenio en la dieta sobre el efecto a largo plazo producido por MDMA sobre las neuronas que contienen dopamina y serotonina en el cerebro del ratón. Los animales fueron alimentados con una dieta deficiente o suplementada en selenio durante ocho semanas determinándose seguidamente la actividad de la glutatión peroxidasa y el índice de peroxidación lipídica cerebral. Para estudiar el efecto de ambas dietas sobre las vías dopaminérgicas o serotoninérgicas los ratones recibieron MDMA en la séptima semana de tratamiento dietético. Además, se evaluó la capacidad atrapadora de radicales libres de los terminales nerviosos dopaminérgicos y serotoninérgicos del cerebro del ratón.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales y protocolos de administración

Se utilizaron 36 ratones macho C57BL/6J (Harlan Ibérica, Barcelona) cuyo peso corporal inicial fue de 20-25 g. Los animales fueron divididos al azar en dos grupos y mantenidos en tratamiento dietético durante siete semanas. El grupo I fue alimentado con una dieta selenio-deficiente basada en levadura *Torula*, cuyo contenido de selenio fue < 0,02 mg/kg, mientras que el grupo II recibió esta dieta suplementada con 0,2 mg/kg de selenio. La composición de la dieta selenio-deficiente (TD 96163, Harlan Ibérica, SL) fue la siguiente: levadura *Torula* 300 g/kg, DL-metionina 3 g/kg, sacarosa 591 g/kg, aceite de maíz 50 g/kg, mezcla de

minerales (selenio-deficiente) 33 g/kg, carbonato cálcico 11 g/kg y mezcla de vitaminas Tekland 10 g/kg. En el caso de la dieta suplementada en selenio, su composición general fue la misma que la dieta selenio-deficiente, con la diferencia de que estaba suplementada con 1 g/kg de una solución de 0,0445% de selenito sódico en sacarosa (0,2 mg/kg de selenio, TD 01116, Harlan Ibérica, SL).

Las dosis de selenio fueron seleccionadas sobre la base de estudios previos realizados con metanfetamina y MPTP (22, 24) y otros que habían demostrado que concentraciones más elevadas de selenio en la dieta (1 mg/kg, 2 mg/kg o 4 mg/kg) no suponían un incremento adicional en la actividad de la glutatión peroxidasa (28). Un grupo extra de animales fue alimentado con una dieta estándar que contenía 0,16 mg/kg de selenio (AO4 PANLAB).

Los ratones fueron estabulados en grupos de tres por jaula, en condiciones de temperatura constante (21 °C ± 2 °C), un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y con libre acceso a agua y al tipo de comida asignada. Los animales se pesaron dos veces por semana y el consumo de comida se monitorizó diariamente a lo largo del experimento.

Transcurridas siete semanas, el grupo mantenido con una dieta selenio deficiente (grupo I) y el mantenido con una dieta suplementada en selenio (grupo II) fueron divididos a su vez en dos grupos (a + b). Grupos Ia y Ib recibieron MDMA 15 mg/kg, vía intraperitoneal (ip), tres veces consecutivas con un intervalo de tres horas. Los grupos Ib y IIb recibieron suero salino siguiendo el mismo protocolo experimental. MDMA se disolvió en suero salino (NaCl 0,9% w/v) y se inyectó en un volumen de 10 mL/kg. Las dosis se expresan siempre en términos de base libre. Los animales fueron sacrificados siete días después de la administración de MDMA.

Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo de acuerdo con las normas dictadas por el NIH (National Institute for Health) para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

(±) MDMA hidrocloreuro fue donado por el NIDA (National Institute on Drug Abuse, Research Triangle Park, North Carolina, USA).

### Medida de la temperatura rectal

La temperatura se midió mediante un termómetro digital (Tipo K, Portec, UK) con una resolución de ± 0,1 °C y una exactitud de ± 0,2 °C acoplado a una sonda (CAC-005 Rodent Sensor) que se insertaba 2 cm en el recto del ratón. Durante la medida el animal se sujetó ligeramente con la ma-

no. La lectura se obtuvo durante los diez segundos siguientes a la introducción de la sonda en el recto. Se monitorizó la temperatura inmediatamente antes y hasta ocho horas después de la primera inyección de MDMA.

### Medida de la concentración de serotonina y dopamina en tejido cerebral

Una semana después de la administración de MDMA, los ratones se sacrificaron mediante dislocación cervical y posterior decapitación. Sus cerebros fueron rápidamente extraídos, diseccionados sobre hielo el hipocampo, el estriado y la corteza. El tejido se homogeneizó en una solución de ácido perclórico (0,2 M) que contenía metabisulfito sódico (0,1%) y cisteína (0,1%) y se centrifugó a 12.000 x g durante 20 minutos. El precipitado se descartó y el sobrenadante se inyectó en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (hplc) para la cuantificación de serotonina, ácido 5-hidroxi-indol acético (5-HIAA), dopamina, ácido homovanílico (HVA) y ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC). La concentración de catecoles se determinó únicamente en el estriado, puesto que en esta área la mayoría de los terminales monoaminérgicos son dopaminérgicos. La fase móvil consistió en una mezcla de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,05 M), ácido octanosulfónico (0,16 mM), EDTA (0,1 mM) y metanol (16%), ajustada a pH 3 con ácido fosfórico, filtrada y desgasificada. El flujo fue de 1 mL/min y el potencial del electrodo de trabajo + 0,8 V.

El sistema de hplc consistió en una bomba (Waters 510) unida a un inyector automático (capacidad máxima de carga 200 µL, Waters 712 WISP), una columna de acero inoxidable de fase reversa (Spherisorb ODS2, 5 µm, 150 x 4,6 mm) con una precolumna y un detector amperométrico (Waters M460). La corriente producida se monitorizó mediante un integrador (Waters M745).

### Peroxidación lipídica *in vitro* inducida por FeCl<sub>2</sub> + ácido ascórbico

Sinaptosomas corticales de ratón (fracción P2) fueron preparados como describió Lynch y Voss (29) y resuspendidos en buffer Tris 50 mM (pH = 7,4) conteniendo NaCl 120 mM y KCl 5 mM hasta conseguir una concentración de proteína de aproximadamente 400 µg/mL. Las membranas (400 µL) se añadieron a tubos que contenían 50 µL de FeCl<sub>2</sub> (30 µM), 50 µL de ácido ascórbico (1 mM). Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 30 minutos (14, 30). La peroxidación lipídica se midió

según una modificación del método de Das y Ratty (31) mediante el cual, sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico, fundamentalmente el malondialdehído producido como producto secundario, se cuantificó utilizando la reacción colorimétrica del ácido 2-tiobarbitúrico. Brevemente, 150  $\mu$ L HCl (0,5 M) y 300  $\mu$ L de ácido tricloroacético (40% v/v) fueron añadidos a la mezcla de incubación seguidos de 300  $\mu$ L de ácido tiobarbitúrico (2% w/v). Las muestras se calentaron durante 15 minutos a 90 °C y se centrifugaron a 1.500 x g a 4 °C durante 15 minutos. El color rosa desarrollado por la reacción se midió registrando la absorbancia a 532 nm y la concentración de malondialdehído se calculó mediante la utilización de una curva estándar preparada con la sal tetrabutilamonio de malondialdehído. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

#### Actividad de la glutatión peroxidasa

El tejido cerebral (corteza y estriado) se homogeneizó en diez volúmenes de sacarosa (0,32 M) y se centrifugó a 100.000 x g durante 30 minutos a 4 °C. Una alícuota del sobrenadante se utilizó inmediatamente para medir la actividad de la glutatión peroxidasa selenio-dependiente de acuerdo con el procedimiento descrito por Flohé y Günzler (32). El ensayo contenía 40 mM de buffer fosfato potásico (pH = 7), 40  $\mu$ M EDTA, 1 mM GSH, 0,24 U/mL glutatión reductasa, 1 mM azida sódica y sobrenadante (80  $\mu$ L). La mezcla fue preincubada durante diez minutos a 37 °C. A continuación se añadió 0,15 mM de NADPH y se monitorizó el consumo de NADPH independiente de peróxido de hidrógeno durante cinco minutos. La reacción comenzó mediante la adición de 0,25 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la disminución de la absorción a 340 nm se monitorizó durante cinco minutos en un espectrofotómetro termostático (37 °C). La actividad enzimática se calculó como  $\mu$ mol de NADPH oxidado por minuto utilizando el coeficiente de extinción apropiado. Un blanco en el cual el sobrenadante se sustituyó por tampón fosfato potásico fue sustraído de cada ensayo. La proteína se midió según el método de Lowry *et al.* (33).

#### Análisis estadístico de los resultados

Los datos procedentes de los estudios de monoaminas, de la actividad de la glutatión peroxidasa y de la peroxidación lipídica se analizaron mediante un ANOVA de una vía seguido del test de Newman Keuls para comparaciones múltiples

cuando el valor de *F* obtenido era significativo. El análisis estadístico de los datos de temperatura rectal se realizó mediante el paquete estadístico BMDP/386 Dynamic (BMDP Statistical Solutions, Cork, Eire). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con medidas repetidas (programa 2V) o no balanceado (programa 5V). Ambos usaron el tratamiento como el factor entre los sujetos y el tiempo como medida repetitiva. El ANOVA se llevó a cabo tanto en las muestras basales, como en las obtenidas después del tratamiento correspondiente.

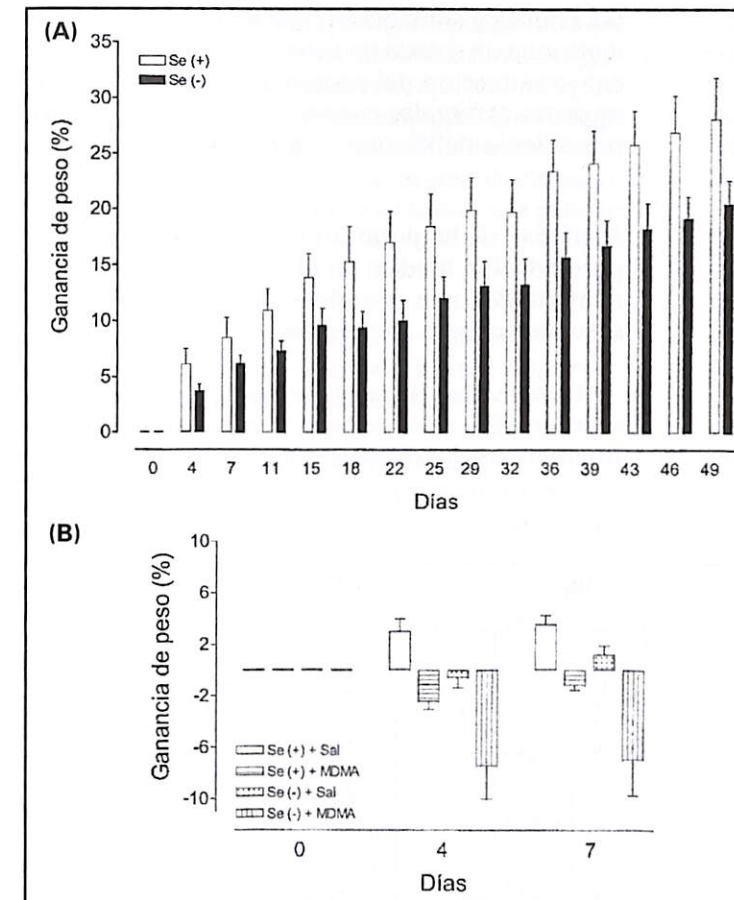
### RESULTADOS

#### Efecto de MDMA sobre la ganancia de peso y el consumo de comida en ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente o suplementada en selenio

El peso inicial corporal fue similar en ambos grupos dietéticos (21,0  $\pm$  0,5 g, *n* = 18 y 21,4  $\pm$  0,4 g, *n* = 18 para los grupos suplementados en selenio y selenio deficientes, respectivamente).

No hubo diferencia en el consumo de dieta entre ratones mantenidos con una dieta selenio-deficiente o suplementada en selenio durante siete semanas antes de la administración de MDMA. Ambos grupos consumieron un promedio de 2,9  $\pm$  0,05 y 2,9  $\pm$  0,05 g/día de comida, respectivamente. Sin embargo, el grupo selenio-deficiente mostró una menor ganancia de peso que el grupo suplementado en selenio a lo largo del período de tratamiento dietético (Figura 1A).

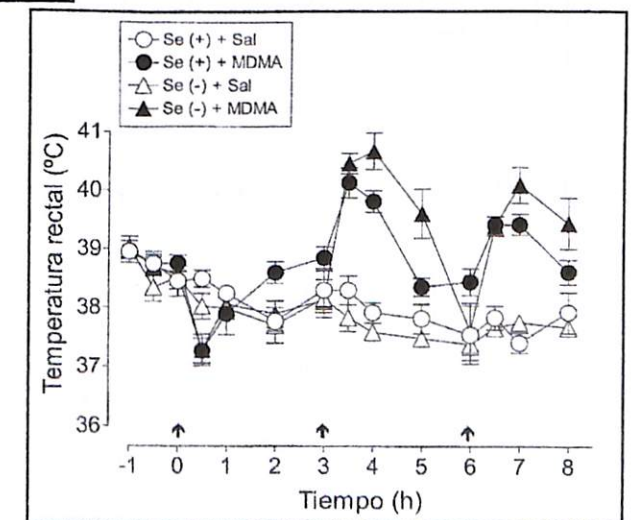
MDMA se administró en la séptima semana de tratamiento dietético, siendo mantenidos los animales con uno u otro tipo de dieta durante una semana más. La administración repetida de MDMA (15 mg/kg) tres veces, con un intervalo de tres horas solamente produjo una disminución en el consumo de dieta en las 24 horas siguientes a la inyección, siendo este efecto similar en ambos grupos, selenio-deficiente o suplementado en selenio. Este efecto no fue evidente en ratones inyectados con salino. Durante los siete días después de la administración de salino, los ratones mantenidos con una dieta selenio deficiente continuaron mostrando una reducción en la ganancia de peso en comparación con aquellos mantenidos con una dieta suplementada en selenio. MDMA causó una disminución en el peso corporal en ambos grupos de animales pero este efecto fue más pronunciado en ratones selenio-deficientes (Figura 1B).



**Figura 1.** Ganancia de peso de ratones mantenidos con una dieta deficiente o suplementada en selenio antes (A) y después (B) de la administración repetida de MDMA. Los animales se mantuvieron en tratamiento dietético durante siete semanas. A continuación cada grupo dietético se dividió a su vez en dos grupos que recibieron MDMA (15 mg/kg, ip, tres veces, cada tres horas) o salino. Los animales se mantuvieron en tratamiento dietético durante una semana más antes del sacrificio. Los resultados muestran la media  $\pm$  EEM (*n* = 12-18 antes de MDMA, *n* = 5-9 después de MDMA). La dieta deficiente en selenio produjo una disminución en la ganancia de peso de los animales en comparación con la dieta suplementada en selenio [*F*(1,26) = 4,9, *p* < 0,05]; MDMA también produjo una disminución en la ganancia de peso en ambos grupos dietéticos, suplementados con selenio [*F*(1,8) = 46,7, *p* < 0,001] y selenio deficientes [*F*(1,9) = 20,2, *p* < 0,001].

#### Efecto de MDMA sobre la temperatura rectal de ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente o suplementada en selenio

La administración repetida de MDMA (15 mg/kg) tres veces, con un intervalo de tres horas produjo una respuesta hipertérmica cuya duración fue de ocho horas y que resultó similar en ambos grupos dietéticos, suplementado en selenio o selenio-deficiente. En el grupo suplementado en selenio hubo un incremento modesto tras la primera dosis y un aumento sostenido tras la segunda y tercera inyección de MDMA (Figura 2). En el caso del grupo selenio-deficiente se observó un incremento únicamente tras la segunda y tercera dosis de MDMA (Figura 2), pero el área total bajo la curva fue similar a la observada en el grupo suplementado en selenio. No hubo diferencia significativa entre la temperatura rectal de ratones mantenidos con uno u otro tipo de dieta e inyectados con salino (Figura 2).



**Figura 2.** Temperatura rectal de ratones mantenidos con una dieta deficiente o suplementada en selenio e inyectados con MDMA (15 mg/kg, ip, tres veces, cada tres horas). Los animales se mantuvieron en tratamiento dietético durante siete semanas antes de recibir MDMA y una semana después. MDMA produjo un incremento en la temperatura rectal de ambos grupos de animales, suplementados en selenio [*F*(1,10) = 26,2, *p* < 0,001] y selenio deficientes [*F*(1,16) = 70,2, *p* < 0,001], siendo la respuesta hipertérmica similar en ambos grupos de animales [*F*(1,13) = 1,35, ns]. Los resultados muestran la media  $\pm$  EEM (*n* = 6-9).

**Efecto de MDMA sobre la concentración de dopamina en estriado y de serotonina en estriado, corteza e hipocampo de ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente o suplementada en selenio**

La administración repetida de MDMA (15 mg/kg) tres veces, con un intervalo de tres horas produjo, siete días más tarde, una reducción en la concentración estriatal de dopamina en los dos grupos de animales, pero este efecto fue más pronunciado en ratones selenio-deficientes (Figura 3A).

Mientras la administración de MDMA no alteró la concentración de serotonina en el hipocam-

po, corteza y estriado en ratones mantenidos con dieta suplementada en selenio, causó una significativa reducción del contenido indólico en estas regiones cerebrales cuando se administró a ratones selenio-deficientes (Figuras 3B-D).

**Actividad de la glutatión peroxidasa y peroxidación lipídica en el cerebro de ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente o suplementada en selenio**

La actividad de la glutatión peroxidasa se redujo un 30% en la corteza y estriado de ratones mantenidos durante ocho semanas con una die-

ta selenio-deficiente (Figura 4A). Además, ocho semanas después de comenzar el tratamiento dietético, el índice de peroxidación lipídica (reflejado por la formación de malondialdehído) fue más alto en sinaptosomas corticales procedentes de ratones mantenidos con una dieta selenio-deficiente que los de ratones suplementados con selenio (Figura 4B).

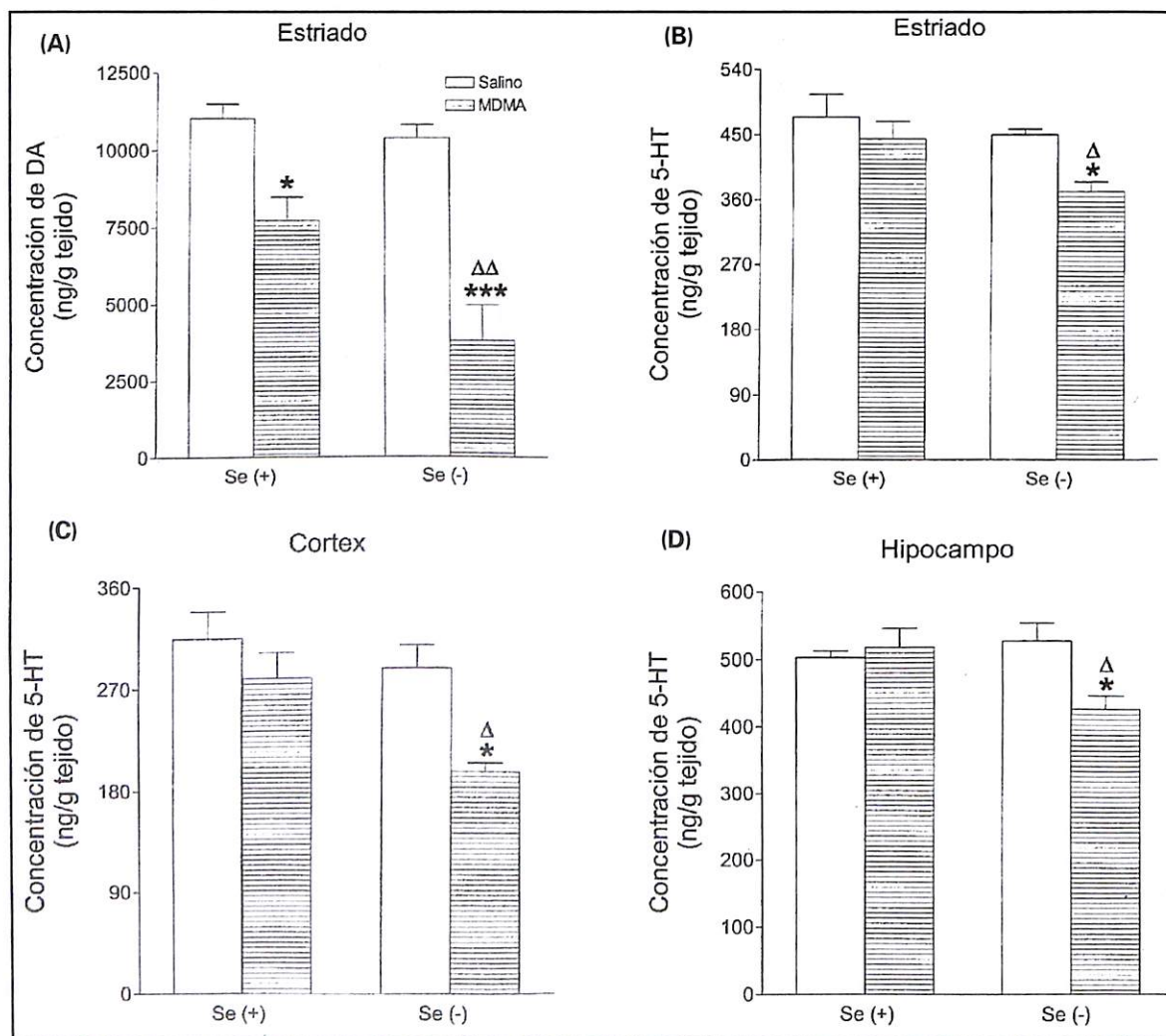
**Actividad de la glutatión peroxidasa y peroxidación lipídica en el cerebro de ratones alimentados con una dieta estándar**

Para evaluar si la actividad atrapadora de radicales libres es diferente entre los terminales nerviosos dopaminérgicos y serotoninérgicos, deter-

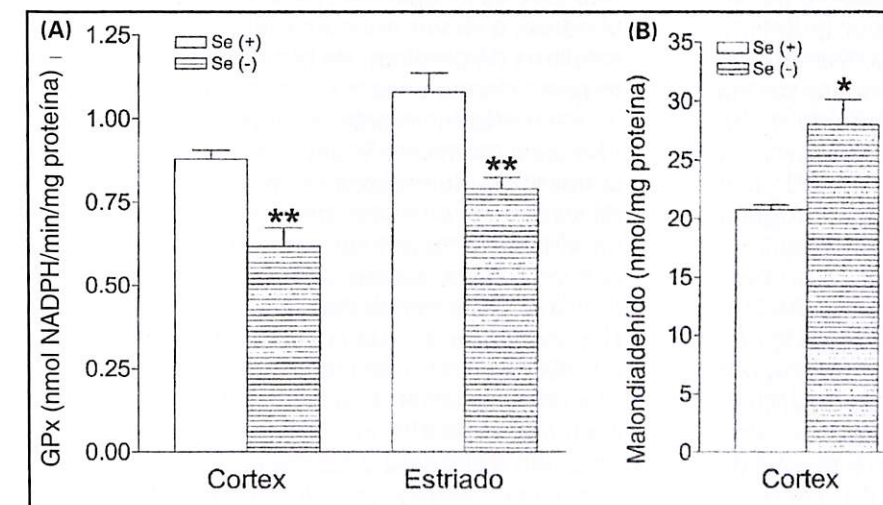
minamos la actividad de la glutatión peroxidasa y el índice de peroxidación lipídica en el estriado (donde la mayoría de los terminales monoaminérgicos son dopaminérgicos) y en la corteza de ratones alimentados con una dieta estándar. La actividad de la glutatión peroxidasa presentó una tendencia a ser más baja en la corteza (Figura 5A) y la formación de malondialdehído fue más elevada en sinaptosomas estriatales que corticales (Figura 5B).

**DISCUSIÓN**

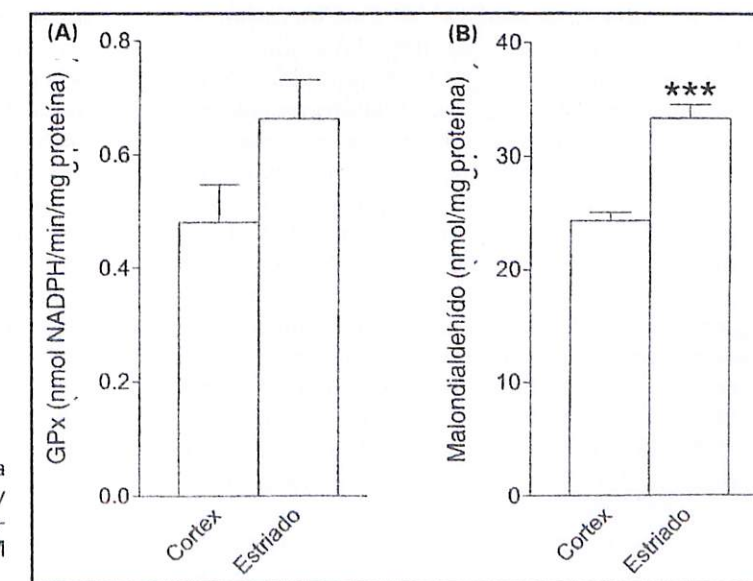
Estos resultados indican que una variación en el contenido de selenio en la dieta produce cam-



**Figura 3.** Concentración de dopamina en el estriado (A) y de serotonina en estriado (B), corteza (C) e hipocampo (D) de ratones mantenidos con una dieta deficiente o suplementada en selenio e inyectados con MDMA (15 mg/kg, ip, tres veces, cada tres horas). Los animales se mantuvieron en tratamiento dietético durante siete semanas antes de recibir MDMA y una semana después. Los resultados se muestran la media  $\pm$  EEM ( $n = 5-9$ ). Diferente del correspondiente grupo salino: \* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ . Diferente del grupo suplementado con selenio:  $\Delta p < 0,05$ ,  $\Delta\Delta p < 0,01$ .



**Figura 4.** Actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) en corteza y estriado (A) y peroxidación lipídica en sinaptosomas corticales (B) de ratones mantenidos con una dieta deficiente o suplementada en selenio durante ocho semanas. Los resultados muestran la media  $\pm$  EEM ( $n = 4-7$ ). Diferente del grupo suplementado con selenio: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$ .



**Figura 5.** Actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) (A) y peroxidación lipídica (B) en estriado y corteza de ratones mantenidos con una dieta estándar. Los resultados muestran la media  $\pm$  EEM ( $n = 7-8$ ). Diferente del estriado: \*\*\* $p < 0,001$ .

bios cualitativos y cuantitativos en la neurotoxicidad de la MDMA en el ratón. Así, ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente (< 0,02 mg/kg) muestran una mayor disminución en la concentración estriatal de dopamina tras la administración de MDMA que ratones alimentados con una dieta suplementada en selenio (0,2 mg/kg). Nuestros resultados también demuestran que un tratamiento dietético prácticamente carente de selenio origina una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa en el cerebro del ratón (30% en corteza y estriado), siendo esta reducción suficiente para inducir un incremento en el grado de peroxidación lipídica en sinaptosomas corticales que se refleja por un potenciamiento en la formación de malondialdehído. En conjunto, estos datos indican que la potenciación de la toxicidad de MDMA sobre los terminales nerviosos dopaminérgicos inducida por una dieta selenio-deficiente se debe a una alteración del sistema de detoxificación antioxidante mediado por glutatión. Parece razonable hipotetizar que una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa podría conducir a una acumulación de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que podría exceder la capacidad de detoxificación de la catalasa. De acuerdo con la reacción de Fenton, el peróxido de hidrógeno en exceso podría reaccionar con metales de transición tales como el hierro y producir un aumento en la formación de radicales hidroxilo (34, 35).

La implicación del estrés oxidativo y de los radicales libres en la neurotoxicidad inducida por MDMA en el ratón está ampliamente documentada. Es conocido que la MDMA incrementa alrededor de 150-200% la formación de ácido 2,3-dihidroxibenzoico a partir de ácido salicílico perfundido a través de una sonda de microdiálisis implantada en el estriado (4). Este incremento en la formación de radicales hidroxilo induce, a su vez, un incremento en el grado de peroxidación lipídica estriatal (14). Además, inhibidores selectivos de la óxido nítrico sintasa neuronal, tales como AR-R17477AR, bloquean la formación de radicales libres y previenen la depleción de dopamina a largo plazo (4). Puesto que estos compuestos no producen sus efectos neuroprotectores mediante una acción sobre la hipertermia inducida por MDMA (4), se podría concluir que el óxido nítrico desempeña un papel importante en la neurotoxicidad inducida por MDMA en el ratón. Aparte de radicales hidroxilo y óxido nítrico, existe evidencia experimental indicando que el anión superóxido podría mediar también el daño inducido por MDMA a largo plazo en el ratón. Así, se ha demostrado que la depleción de dopamina inducida por MDMA es atenuada cuando la droga

se administra a ratones transgénicos que sobreexpresan la enzima CuZn superóxido dismutasa (12). El óxido nítrico puede interactuar con anión superóxido y formar peroxinitrito (ONOO-) (23, 36). El peroxinitrito puede ser protonado y formar ácido peroxinitroso (ONOOH) que seguidamente se escinde en radicales hidroxilo (37). Todas estas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, además de producir la oxidación directa de las membranas lipídicas, también pueden contribuir a alterar el balance de los mecanismos de defensa antioxidantes. Así, donadores de óxido nítrico, precursores de peroxinitrito y peroxinitritos sintéticos, inactivan a la glutatión peroxidasa mediante la oxidación del centro selenocisteína, aminoácido que es esencial para la actividad peroxidasa (38). Puesto que la glutatión peroxidasa no solamente contribuye a la detoxificación de peróxido de hidrógeno, sino que también detoxifica peroxinitrito (39), su incapacidad para inactivar peróxidos, conduce, a su vez, a incrementar los niveles intracelulares de peróxido de hidrógeno y peroxinitrito produciendo un alto grado de daño celular.

De particular interés es la observación de que una dieta selenio-deficiente induce, a largo plazo, la aparición de toxicidad sobre la concentración de serotonina en varias áreas cerebrales del ratón, un efecto no observado en ratones mantenidos con una dieta suplementada en selenio ni en aquellos mantenidos con una dieta estándar (5). Hay evidencia de que la administración repetida de MDMA en el ratón induce, 16 horas más tarde, una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa así como en las actividades de la superóxido dismutasa y catalasa en varias regiones cerebrales: caudado-putamen, corteza frontal e hipocampo (13). Sin embargo, estos cambios en las diversas actividades enzimáticas no resultan en un efecto tóxico sobre los terminales nerviosos que contienen serotonina, lo cual indica que la actividad enzimática remanente es suficiente para detoxificar el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno del cerebro, probablemente porque la presencia de especies reactivas de oxígeno es menor en los terminales nerviosos serotoninérgicos en comparación con los dopaminérgicos. Sin embargo, los ratones mantenidos con una dieta deficiente en selenio muestran un defecto en la capacidad de detoxificación basal (reflejada por una disminución de la actividad de la glutatión peroxidasa no solamente en áreas enriquecidas en terminales dopaminérgicos, sino también en aquellas que contienen serotonina) y precisamente este efecto podría ser la razón para la aparición de la depleción de serotonina a largo plazo inducida por MDMA.

En contraste a los efectos inducidos por MDMA en ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente, la administración de esta droga a ratones mantenidos con una dieta suplementada en selenio (0,2 mg/kg) o una dieta estándar (0,16 mg/kg) solamente causó una reducción a largo plazo en la concentración estriatal de dopamina dejando intactas las neuronas que contienen serotonina (5). Esta diferente susceptibilidad de las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas al daño neurotóxico inducido por MDMA ha sido previamente descrita por otros autores y en nuestro propio laboratorio (1-3, 5, 40) y podría ser atribuida al hecho de que el sistema de detoxificación cerebral frente a la formación de radicales libres es menos eficiente en las neuronas dopaminérgicas que en las serotoninérgicas. De hecho, nuestros resultados apoyan esta hipótesis puesto que a pesar de que la actividad de la glutatión peroxidasa tiende a ser más alta en el estriado que en la corteza, el grado de peroxidación lipídica inducido por FeCl<sub>2</sub> + ácido ascórbico es también más pronunciado en el estriado. Estos datos indican que un incremento en la actividad de la glutatión peroxidasa no necesariamente resulta en un efecto detoxificante más pronunciado sino que la actividad de la glutatión peroxidasa está probablemente relacionada con la necesidad de detoxificar el peróxido de hidrógeno que se forma continuamente en el curso del metabolismo de la dopamina estriatal (41, 42).

Los ratones mantenidos con una dieta selenio-deficiente (< 0,02 mg/kg) mostraron una menor ganancia de peso que los mantenidos con dieta suplementada en selenio, lo cual indica que el selenio es un micronutriente esencial para un óptimo crecimiento y que el requerimiento de selenio en la dieta es mayor que el contenido en la dieta selenio-deficiente. De hecho, el requerimiento de selenio en la dieta establecido por el National Research Council es 0,1 mg Se/kg dieta (= 0,1 ppm). Esta atenuación en la ganancia de peso en los ratones producida por la depleción de selenio ha sido descrita previamente (22). La reducción en el crecimiento producida por la deficiencia de selenio no se debe a una disminución en el consumo de dieta, por lo tanto, parece razonable proponer que una malabsorción de los nutrientes podría ser una de las razones de la disminución en el peso corporal. Además, la depleción de selenio a largo plazo disminuye la actividad de la tiorredoxina reductasa, una enzima que está implicada en la regulación del crecimiento celular a través de su reducción a tiorredoxina (43).

Un punto que parece estar muy claro es que las diferencias observadas en la toxicidad induci-

da por MDMA entre ratones alimentados con una dieta selenio-deficiente o suplementada en selenio no se deben a un efecto relacionado con la temperatura corporal. Aunque la respuesta hipertermia inducida por la segunda y tercera inyección de MDMA en animales selenio-deficientes fue ligeramente más alta que la observada en ratones suplementados en selenio, el área bajo la curva no fue estadísticamente significativa entre ambos grupos.

En resumen, este estudio demuestra que una deficiencia en selenio altera el estado antioxidante celular del cerebro de ratón y que este efecto no solamente exacerba la toxicidad dopaminérgica inducida por MDMA, sino que también facilita la aparición de daño sobre las neuronas que contienen serotonina.

## BIBLIOGRAFÍA

1. STONE D M, HANSON G R, GIBB J W. Differences in the central serotonergic effects of methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in mice and rats. *Neuropharmacology*. 1987; 26: 1657-1661.
2. LOGAN B J, LAVERTY R, SANDERSON W D, YEE Y B. Differences between rats and mice in MDMA (methylenedioxymethylamphetamine) neurotoxicity. *Eur J Pharmacol*. 1988; 152: 227-234.
3. O'CALLAGHAN J P, MILLER D B. Neurotoxicity profiles of substituted amphetamines in the C57BL/6J mouse. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994; 270: 741-751.
4. COLADO M I, CAMARERO J, MECHAN A O, SÁNCHEZ V, ESTEBAN B, ELLIOT J M, GREEN A R. A study of the mechanism involved in the neurotoxic action of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, «ecstasy») on dopamine neurons in mouse brain. *Brit J Pharmacol*. 2001; 134: 1711-1723.
5. O'SHEA E, ESTEBAN B, CAMARERO J, GREEN A R, COLADO M I. Effect of GBR 12909 and fluoxetine on the acute and long-term changes induced by MDMA («ecstasy») on the 5-HT and dopamine concentrations in mouse brain. *Neuropharmacology*. 2001; 40: 65-74.
6. KODA L Y, GIBB J W. Adrenal and striatal tyrosine hydroxylase activity after methamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1973; 185: 42-48.
7. SONSALLA P K, NICKLAS W J, HEIKKILA R E. Role for excitatory amino acids in methamphetamine-induced nigrostriatal dopaminergic toxicity. *Science*. 1989; 243: 398-400.
8. GREEN A R, DE SOUZA R J, WILLIAMS J L, MURRAY T K, CROSS A J. The neurotoxic effects of methamphetamine on 5-hydroxytryptamine and dopamine in brain: evidence for the protective effect of chlormethiazole. *Neuropharmacology*. 1992; 31: 315-321.
9. BALDWIN H A, COLADO M I, MURRAY T K, DE SOUZA R J, GREEN A R. Striatal dopamine release in vivo following neurotoxic doses of methamphetamine and effect of neuroprotective drugs, chlormethiazole and dizocilpine. *Br J Pharmacol*. 1993; 108: 590-596.
10. BOWYER J F, DAVIES D L, SCHMUEDE L, BROENING H W, NEWPORT G D, SLIKKER W Jr, HOLSON R R. Further stu-

- dies of the role of hyperthermia in methamphetamine neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994; 268: 1571-1580.
11. ITZHAK Y, ALI S F. The neuronal nitric oxide synthase inhibitor, 7-nitroindazole, protects against methamphetamine-induced neurotoxicity in vivo. *J Neurochem.* 1996; 67: 1770-1773.
  12. CADET J L, LADENHEIM B, HIRATA H, ROTHMAN R B, ALI S, CARLSON E, EPSTEIN C, MORAN T H. Superoxide radicals mediate the biochemical effect of methylenedioxymethamphetamine (MDMA): Evidence from using CuZn-superoxide dismutase transgenic mice. *Synapse.* 1995; 21: 169-176.
  13. JAYANTHI S, LADENHEIM B, ANDREWS A M, CADET J L. Overexpression of human copper/zinc superoxide dismutase in transgenic mice attenuates oxidative stress caused by methylenedioxymethamphetamine (ecstasy). *Neuroscience.* 1999; 91: 1379-1387.
  14. CAMARERO J, SÁNCHEZ V, O'SHEA E, GREEN A R, COLADO M I. Studies, using in vivo microdialysis, on the effect of the dopamine uptake inhibitor GBR 12909 on 3,4-methylenedioxymethamphetamine («ecstasy»)-induced dopamine release and free radical formation in the mouse striatum. *J Neurochem.* 2002; 81: 961-972.
  15. CHIUH C C, KRISHNA G, TULSI P, OBATA T, LANG K, HUANG S J, MURPHY D L. Role of dopamine autoxidation, hydroxyl radical generation and calcium overload in underlying mechanisms involved in MPTP-induced Parkinsonism. *Adv Neurol.* 1992; 60: 251-258.
  16. GIOVANNI A, LIANG L P, HASTINGS T G, ZIGMOND M J. Estimating hydroxyl radical content in rat brain using systemic and intraventricular salicylate; impact of methamphetamine. *J Neurochem.* 1995; 64: 1819-1825.
  17. COLADO M I, O'SHEA E, GRANADOS R, MURRAY T K, GREEN A R. In vivo evidence for free radical involvement in the degeneration of rat brain 5-HT following administration of MDMA («ecstasy») and p-chloroamphetamine but not the degeneration following fenfluramine. *Brit J Pharmacol.* 1997; 121: 889-900.
  18. HALLIWELL B, KAUR H. Hydroxylation of salicylate and phenylalanine as assays for hydroxyl radicals: a cautionary note visited for the third time. *Free Rad Res.* 1997; 27: 239-244.
  19. PERRY T L, YONG V W, CLAVIER R M, JONES K, WRIGHT J M, FOULKS J G, WALL R A. Partial protection from the dopaminergic neurotoxin N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine by four different antioxidants in the mouse. *Neurosci Lett.* 1985; 60: 109-114.
  20. WAGNER G C, CARELLI R M, JARVIS M F. Ascorbic acid reduces the dopamine depletion induced by methamphetamine and the 1-methyl-4-phenyl-pyridinium ion. *Neuropharmacology.* 1986; 25: 559-561.
  21. SUTPHIN M S, BUCKMAN T D. Effects of low selenium diets on antioxidant status and MPTP toxicity in mice. *Neurochem Res.* 1991; 16: 1257-1263.
  22. KIM H C, JHOO W K, CHOI D Y, MI D H, SHIN E J, SUH J H, FLOYD R A, BING G. Protection of methamphetamine nigrostriatal toxicity by dietary selenium. *Brain Res.* 1999; 851: 76-86.
  23. IMAM S Z, ALI S F. Selenium, an antioxidant, attenuates methamphetamine-induced dopaminergic toxicity and peroxynitrite generation. *Brain Res.* 2000; 855: 186-191.
  24. KIM H C, JHOO W K, SHIN E J, BING G. Selenium deficiency potentiates methamphetamine-induced nigral neuronal loss; comparison with MPTP model. *Brain Res.* 2000; 862: 247-252.
  25. CASTANO A, CANO J, MACHADO A. Low selenium diet affects monoamine turnover differentially in substantia nigra and striatum. *J Neurochem.* 1993; 61: 1302-1307.
  26. FREEMAN B A, CRAPO J D. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982; 47: 412-426.
  27. FRIDOVICH I. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *J Biol Chem.* 1989; 264: 7761-7764.
  28. WHANGER P D, BUTLER J A. Effects of various dietary levels of selenium as selenite or selenomethionine on tissue selenium levels and glutathione peroxidase activity in rats. *J Nutr.* 1988; 118: 846-852.
  29. LYNCH M A, VOSS K L. Arachidonic acid increases inositol phospholipid metabolism and glutamate release in synaptosomes prepared from hippocampal tissue. *J Neurochem.* 1990; 55: 215-221.
  30. COLADO M I, O'SHEA E, ESTEBAN B, GRANADOS R, GREEN A R. In vivo evidence against clomethiazole being neuroprotective against MDMA («ecstasy»)-induced degeneration of rat brain 5-HT nerve terminals by a free radical scavenging mechanism. *Neuropharmacology.* 1999; 38: 307-314.
  31. DAS N P, RATTY A K. Studies on the effect of the narcotic alkaloids, cocaine, morphine, and codeine on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondria. *Biochem Med Metab Biol.* 1987; 37: 258-264.
  32. FLOHE L, GÜNZLER W A. Assays of glutathione peroxidase. *Meth Enzymol.* 1984; 105: 114-121.
  33. LOWRY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, RANDALL R J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193: 265-275.
  34. NAPPI A J, VASS E. Comparative studies of enhanced iron-mediated production of hydroxyl radical by glutathione, cysteine, ascorbic acid, and selected catechols. *Biochem Biophys Acta.* 1997; 1336: 295-302.
  35. NAPPI A J, VASS E. Hydroxyl radical formation via iron-mediated Fenton chemistry is inhibited by methylated catechols. *Biochem Biophys Acta.* 1998; 1425: 159-167.
  36. PRYOR W A, SQUADRITO G L. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol.* 1995; 268: L699-722.
  37. BECKMAN J S, BECKMAN T W, CHEN J, MARSHALL P A, FREEMAN B A. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci.* 1990; 87: 1620-1624.
  38. ASAMI M, FUJII J, TAKA T, KUZUYA T, HORIS M, SHIMONISHI Y, TANIGUCHI N. The oxidation of selenocysteine is involved in the inactivation of glutathione peroxidase by nitric oxide donor. *J Biol Chem.* 1997; 272: 19152-19157.
  39. SIES H, SHAROV V S, KLOTZ L O, BRIVIBA K. Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidations: A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. *J Biol Chem.* 1997; 272: 27812-27817.
  40. BATTAGLIA G, YEH S Y, DE SOUZA E B. MDMA-induced neurotoxicity: parameters of degeneration and recovery of brain serotonin neurons. *Pharmacol Biochem Behav.* 1988; 29: 269-274.
  41. BRANNAN T S, MAKER H S, WEISS C, COHEN G. Regional distribution of glutathione peroxidase in the adult rat brain. *J Neurochem.* 1980; 35: 1013-1014.
  42. SOMANI S M, RAVI R, RYBAK L P. Effect of exercise training on antioxidant system in brain regions of rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995; 50: 635-639.
  43. BERGGREN M M, MANGIN J F, GASDAKA J R, POWIS G. Effect of selenium on rat thioredoxin reductase activity: increase by supranutritional selenium and decrease by selenium deficiency. *Biochem Pharmacol.* 1999; 57: 187-193.

## Sensibilidad y alergia al látex en un Servicio de Dermatología Laboral

### Sensitization and allergy from latex in a Department of Occupational Dermatology

<sup>1</sup> Escuela Profesional de Medicina del Trabajo  
Alicante

<sup>2</sup> Servicio de Dermatología  
Instituto de Biomedicina  
Hospital Vargas  
Caracas, Venezuela

<sup>3</sup> Servicio de Dermatología Laboral  
Escuela Nacional de Medicina y Seguridad en el Trabajo  
Instituto Carlos III

<sup>4</sup> Servicio de Inmunología  
Hospital Ramón y Cajal  
Madrid

De la Cerda R. <sup>1</sup>  
Asbati M. <sup>2</sup>  
Valks R. <sup>3</sup>  
Azañedo M. <sup>3</sup>  
Cuevas M. <sup>4</sup>  
Conde-Salazar L. <sup>3</sup>

#### RESUMEN

Se estudian 1.171 trabajadores referidos al Servicio de Dermatología Laboral del Instituto Nacional de Medicina y Seguridad en el Trabajo durante los años 2001 y 2002 para investigar su posible sensibilización y/o urticaria alérgica de contacto al látex (UACL). Durante estos dos años se realizó *prick test* a todos los trabajadores y a los 38 (3,24%) positivos se les determinó IgE específica al látex. Todos ellos fueron parcheados con la batería estándar del GEIDC, batería de componentes de las gomas y con la batería correspondiente a los productos que manipulaban en su puesto de trabajo. Los trabajadores sanitarios fueron los más afectados por UACL. La localización de las lesiones fue, por lo general, en la zona de contacto con los guantes. No se apreció entre los pacientes atópicos una mayor sensibilización al látex. Existen niveles de IgE específica al látex elevados más frecuentemente entre los trabajadores sanitarios que en otras profesiones. Se confirmó que pueden coexistir reacciones de hipersensibilidad tipo I al látex y reacciones de hipersensibilidad tipo IV a los componentes de las gomas. Es necesaria la prevención en los trabajadores sensibilizados que trabajen expuestos a látex.

**Palabras clave:** Alergia, sensibilidad, látex, profesional.

De la Cerda D, Asbati M, Valks R, Azañedo M, Cuevas M, Conde-Salazar L.  
Sensibilidad y alergia al látex en un Servicio de Dermatología Laboral  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 63-69

#### Correspondencia:

L. Conde-Salazar Gómez  
Servicio de Dermatología Laboral  
Escuela Nacional de Medicina del Trabajo  
Instituto de Salud Carlos III  
28008 Madrid  
E-mail: lconde@isciii.es

#### ABSTRACT

With the objective to study the frequency of sensitization and allergic contact urticaria from latex (ACUL), we studied all 1,171 patients who visited our Department of Occupational Dermatology for the assessment of occupational skin diseases in the last two years (2001-2002).

Prick testing for latex and patch testing were performed in all patients and specific IgE test against latex was performed in the 38 cases (3,24%) when prick testing was positive. Patch testing included Spanish standard (Grupo Español de Investigación en Dermatitis de Contacto) and rubber battery in all patients and other batteries or products according to the job. Allergic urticaria from latex was more frequent in health care workers. The lesions involved the area covered by the gloves. No significant relation was found between atopy and sensitization to latex. Elevated levels of specific IgE against latex were more frequently observed in health care workers than non-health care workers. The coexistence of a type I hypersensitivity to latex and type IV hypersensitivity to rubber components was confirmed. Workers with sensitization to latex should be protected from contact with latex in their work.

**Key words:** Allergy, sensitization, latex, occupational.

De la Cerda D, Asbati M, Valks R, Azañedo M, Cuevas M, Conde-Salazar L.  
Sensitization and allergy from latex in a Department of Occupational Dermatology  
*Mapfre Medicina*, 2004; 15: 63-69

**Fecha de recepción:** 8 de julio de 2003

## INTRODUCCIÓN

### Látex

El látex es una sustancia orgánica obtenida de fuentes naturales o sintetizada artificialmente. Dos de sus principales propiedades son la elasticidad y la plasticidad. Se obtiene principalmente del árbol *Hevea brasiliensis*, originario de Brasil.

La sensibilización y alergia al látex adquieren relevancia desde que comienza a generalizarse el uso de productos derivados del látex y, particularmente, en la población trabajadora desde las campañas de formación y prevención donde se les instruye en la utilización de guantes de látex como medida de seguridad.

La prevalencia de dermatitis alergia al látex en la población difiere dependiendo de la exposición al látex (1). En particular depende de la susceptibilidad individual (2), del tiempo que se lleven puestos los guantes y de la concentración de alérgenos de látex en el ambiente, pero la prevalencia exacta de dermatitis alérgica al látex en términos globales es desconocida (3). En pacientes no atópicos está alrededor del 1%, en profesionales sanitarios se sitúa entre un 3 y un 12% y en el personal de las fábricas donde se manufacturan los productos de látex es de un 6 hasta un 11%. En profesiones no relacionadas con la salud se ha observado una sensibilización al látex de hasta un 11% (4).

Las principales profesiones de riesgo para desarrollar una sensibilización al látex son el personal sanitario (5), el personal de laboratorio que utiliza habitualmente guantes de látex (1), los manipuladores de alimentos (5), las peluqueras (6), el personal de las fábricas de manufacturación de productos con látex (3), los dentistas, los trabajadores de la construcción (7) que utilizan guantes de goma/látex y suele ser causa de sensibilización tipo IV (8), entre otros. De todos estos grupos los trabajadores con historia de atopía (5, 9) y/o lesiones cutáneas tienen mayor riesgo de sensibilizarse (3, 8), debido a la rotura de la barrera dérmica a través de la cual pueden penetrar los alérgenos. Algunos pacientes sensibilizados al látex pueden presentar reacciones cruzadas con pólenes y determinadas frutas (7). Los pacientes sometidos a múltiples intervenciones quirúrgicas a lo largo de su vida se sensibilizan con mayor frecuencia (3, 10) como los pacientes con espina bífida, cuya prevalencia de alergia al látex se sitúa alrededor de un 18-65% (3). La sensibilización al látex en una consulta de Dermatología Laboral alcanza cifras de hasta un 10% (5).

### Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas pueden ser de dos tipos: dermatitis irritativa, generalmente no mediada por mecanismos inmunológicos, y manifestaciones clínicas mediadas por mecanismos inmunológicos. Entre las producidas por mecanismos inmunológicos se describen las mediadas por hipersensibilidad inmediata o tipo I a las proteínas de látex y las ocasionadas por reacciones de hipersensibilidad tardía o tipo IV frente a los aditivos de la goma.

La **dermatitis irritativa** es la manifestación dermatológica más frecuente asociada al látex (2). Se produce gradualmente en el transcurso de días. Las manifestaciones clínicas son desde lesiones eczematosas en el proceso agudo, hasta lesiones descamativas con fisuración y/o liquenificación cuando el proceso se encuentra más evolucionado. Los pacientes refieren prurito y sensación de irritación cutánea. La zona donde más frecuentemente se localizan las lesiones son las manos. La clínica puede agravarse por el daño químico producido por productos como los detergentes sobre la piel. La atopía es un factor de riesgo para el desarrollo de estas dermatitis irritativas por la hiperreactividad propia de estos pacientes. Al exponerse a irritantes y tener una reactividad elevada aumenta el riesgo de sensibilizaciones por la pérdida de la barrera protectora de la piel.

Las **reacciones inmunológicas inmediatas** se producen en pacientes que han sido previamente sensibilizados y que tras la nueva exposición a productos que contengan látex presentan en el transcurso de minutos hasta una hora postexposición lesiones de urticaria que puede ser local o generalizada, prurito, rinoconjuntivitis, asma, angioedema/shock anafiláctico. La manifestación más frecuente de la UACL es la aparición de prurito y lesiones habonosas en la zona de contacto con el guante (5). Están mediadas por la acción de mediadores liberados por los mastocitos y basófilos en respuesta a la unión del antígeno, en este caso las proteínas del látex, con los anticuerpos tipo IgE presente sobre la superficie de mastocitos y basófilos. Según la intensidad de la UACL se clasifica en varios estadios: tipo I urticaria localizada en la zona de contacto; tipo II urticaria localizada y lesiones generalizadas; tipo III urticaria generalizada y aparición de síntomas de conjuntivitis, rinitis y asma; tipo IV urticaria y reacciones anafilácticas (11).

El diagnóstico de este tipo de reacciones se realiza mediante la prueba del *prick* y la determinación de IgE específica al látex.

Las **reacciones inmunológicas tardías** son excepcionales por las proteínas del látex, los pocos casos descritos son cuestionados (9) debido a que no existe una homologación para el parche con látex (tipo de látex, concentración, vehículo...) y las pruebas resultantes son de aspecto irritativo.

Cuando ocurre una reacción tardía a un producto con látex suele ser debida a los componentes que se añaden en la vulcanización (acelerantes, antioxidantes, etc.) y se caracteriza por la aparición de lesiones eczematosas que aparecen en personas previamente sensibilizadas a lo largo de semanas o meses. Las lesiones se localizan en manos cuando son producidas por el contacto con guantes y normalmente no cursan con lesiones generalizadas. Aparecen entre 12-48 horas tras el contacto y desaparecen lentamente al dejar de utilizar el guante o producto de látex. La clínica es muy variada ya que pueden aparecer formas eczematosas, formas queratósicas, leucodermias y, en ocasiones, lesiones de aspecto purpúrico con petequias, prurito y sensibilización a la amina antioxidante N-fenil-N-ciclohexil-p-fenilendiamina denominándose síndrome P.P.P. (12). El diagnóstico de este tipo de dermatitis se realiza mediante las pruebas epicutáneas o de parche.

Una mención aparte merecen aquellos pacientes que presentan los tres problemas simultáneamente, es decir, dermatitis irritativa, UACL y dermatitis de contacto. En la mayoría de las publicaciones se estudian por separado.

### Pruebas diagnósticas

El *prick test* al látex realizado con extracto comercial es una prueba cuya sensibilidad diagnóstica es de un 98% (13) y su especificidad diagnóstica es de un 100% (9, 13), por lo que es el método de elección para descartar o confirmar una posible alergia o sensibilización al látex (13). Las ventajas que aporta esta prueba son su rapidez y bajo coste, aunque tiene un pequeño riesgo de reacciones sistémicas.

Los métodos diagnósticos *in vitro*, como la IgE sérica específica al látex, son en general menos sensibles, más caros y lentos que la prueba de *prick* pero son más seguros de realizar. Tiene una sensibilidad diagnóstica del 86% (13), pero la especificidad baja en pacientes atópicos y alérgicos a determinados pólenes y frutas. En pacientes no atópicos la especificidad es del 100% (13). Su utilidad se limita a casos donde exista discordancia entre la clínica y el *prick test*, cuando no se pueda disponer de ella o cuando esté contraindicada co-

mo en casos de sensibilidad extrema, dermatitis generalizada, alergia cutánea, etc.

Las pruebas epicutáneas o de parche se utilizan para diagnosticar dermatitis de contacto alérgica. Consiste en reexponer al individuo con historia sugestiva y clínica compatible de dermatitis de contacto alérgica, a los alérgenos sospechosos. Existe un determinado número de alérgenos cuyo índice de sensibilización en la población normal es alto. En base a esto se ha confeccionado una lista denominada serie estándar la cual tiene la ventaja de detectar el 60% de las dermatitis de contacto. La composición viene determinada por la experiencia de los miembros del EECDRG (European Environmental Contact Dermatitis Research Group).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de las historias clínicas que incluían 1.171 trabajadores que acudieron a el Servicio de Dermatología Laboral de la Escuela Nacional de Medicina del Trabajo entre los años 2001 y 2002. Estos pacientes eran enviados a este Servicio por mutuas laborales, médicos de familia, dermatólogos, médicos del trabajo y equipos de valoración de incapacidades, con el fin de investigar si su dermatosis tenía origen profesional.

Como criterio de inclusión se seleccionaron a los pacientes *prick test* positivo. A todos se les realizó una historia clínica incidiendo en los aspectos laborales y exploración clínica. Se completó su estudio con determinación de IgE específica al látex, IgE total y en algunos pacientes IgE específica a frutas. Se les parcheó con alérgenos de la batería estándar y a algunos con la batería de gomas o la correspondiente a los productos que manipulaban en el trabajo.

### Prick test

El *prick test*, comercializado por Laboratorios Abelló S.A. Madrid, se realizó a todos los pacientes incluidos en el estudio. Consiste en la punción de la piel en la cara volar del antebrazo sobre el cual se ha colocado previamente un extracto estandarizado de látex con una lanceta especial con punta de 1 mm. Se utilizó una lanceta estéril para cada punción. Se realizó con extracto comercial estandarizado de látex natural diluido en agua (0,5 mg/mL) y se utilizaron dos controles: la histamina como control positivo (10 mg/mL) y suero

salino como control negativo (0,9%P/V). La lectura se realizó después de 15 minutos. Se considera positivo una pápula mayor a 3 mm de diámetro comparado con el control negativo.

### IgE específica

Se determinó analíticamente IgE total e IgE específica frente a los alérgenos del látex en toda la muestra seleccionada. La técnica utilizada fue el CAP® (Cap System Pharmacia). Consiste en un inmunoensayo enzimático por fluorescencia en que el alérgeno al látex se encuentra fijado a una fase sólida. Se clasifican en niveles del 0 al VI. Se consideran positivos valores por encima de 0,35 KU/L (Gráfico 1). En los pacientes con sintomatología específica a frutas se realizaron determinaciones de IgE específica a frutas relacionadas con látex y test de liberación de histamina a alimentos y a látex.

### Pruebas de parche epicutáneas

A todos los pacientes se les realizó pruebas de parche con la batería estándar del Grupo Español de Investigación en Dermatitis de Contacto (GEIDC) (Figura 1) los alérgenos eran suministrados por el laboratorio Chemotechnique Diagnostics Suecia®. Se colocaron los parches (Lohmann & Rauscher Internacional GmbH) en la parte superior de la espalda y se cubrieron con gasa autoadhesiva Fixomull®. Los trabajadores debían evitar una sudoración profusa y realizar movimientos bruscos y no debían mojarse la espalda durante la semana en que se realizó la prueba. La primera lectura se realizó a las 48 horas. A las 96 horas se realizó la segunda lectura definitiva.

Respuesta inmune	Niveles de IgE a látex
Tipo 0	< 0,35 KU/L
Tipo I	0,35-0,7 KU/L
Tipo II	0,7-3,5 KU/L
Tipo III	3,5-17,5 KU/L
Tipo IV	17,5-50 KU/L
Tipo V	50-100 KU/L
Tipo VI	> 100 KU/L

Gráfico 1. CAP System Pharmacia.

va según las normas dictadas por el GEIDC. A los pacientes que trabajaban con materiales o productos de goma se les realizó pruebas de parche con batería de gomas (Figura 2) suministrada por

Batería standard del GEIDC (2003)	
1 Sulfato de níquel	5% vas
2 Dicromato potásico	0,05% vas
3 Sulfato de neomicina	20% vas
4 Mezcla de thiuram*	1% vas
5 Parafenilendiamina	1% vas
6 Cloruro de cobalto	1% vas
7 Benzocaina (1)	5% vas
8 Formaldehído	1% agua
9 Colofonia	20% vas
10 Clioquinol (2)	5% vas
11 Bálsamo del Perú	25% vas
12 N-isopropil-N-fenilparafenilendiamina (IPPD)	0,1% vas
13 Alcoholes de lana	30% vas
14 Mezcla mercapto*	2% vas
15 Resina epoxi	1% vas
16 Mezcla de parabenos*	16% vas
17 Resina p terc- butil fenol formaldehído	1% vas
18 Mezcla de perfumes*	8% vas
19 Quaternium 15	1% vas
20 Kathon CG (clorometilisotiazolinona)	0,01% agua o 100 ppm en agua
21 Mercaptobenzotiazol	2% vas
22 Mezcla de lactonas*	0,1% vas
23 Mezcla carbamatos*	3% vas
24 Etilendiamina	1% vas
25 Mercurio	0,5% vas
26 Thiomersal	0,1% vas
27 Tixocortol pivalato	1% vas
28 Budesonida	0,01% vas
29 Euxyl K 400 (dibromodicianobutano y fenoxietanol)	1,5 vas

\* Mezcla de thiuram: tetrametiluramdisulfuro, tetrametilurammonosulfuro, tetraetiluramdisulfuro, dipentametiluramdisulfuro (aa 0,25%).  
 (1) O en su lugar mezcla de cainas (7%). Cincocaina (1%), ametoína (1%), benzocaina (5%).  
 (2) O en su lugar mezcla de quinoleinas: 6%. Clioquinol 3%, clorquinaldol 3%.  
 Mezcla de mercaptos: n-ciclohexilbenzotiacilsulfenamida, morfolinilmercaptobenzotiazol, dibenzotiacildisulfuro (aa 66%).  
 Mezcla de parabenos: metil, etil, propil, butil (aa 4%).  
 Mezcla de perfumes: aldehído amilcinámico, aldehído cinámico, musgo de encina absoluto, hidroxicitronelal, eugenol, iso-eugenol, geraniol (1% aa).  
 Mezcla de lactonas sesquiterpénicas: alantolactona (0,033%), custunolide, dehidrocostenolactona (0,067%).  
 Mezcla de carbamatos: difenilguanidina (1%), zinc bis (diethyl-ditiocarbamato) 1%, zinc bis (dibutilditiocarbamato) 1%.

Figura 1

Batería de componentes de la goma	
1 Tetramethylthiuram disulfide (TMTD)	1 vas
2 Tetramethylthiuram monosulfide (TMTM)	1 vas
3 Tetraethylthiuram disulfide (TETD)	1 vas
4 Dipentamethylenethiuram disulfide (PTD)	1 vas
5 N-cyclohexyl-N-phenyl 4-phenylenediamine (CPPD)	1 vas
6 N,N-diphenyl-4-phenylenediamine (DPPD)	1 vas
7 N-Isopropyl-N-phenyl-4-phenylenediamine (IPPD)	0,1 vas
8 2-mercaptobenzothiazole —también en S-1000 (MBT)	2 vas
9 N-cyclohexylbenzothiazyl sulphenamide (CBS)	1 vas
10 Dibenzothiazyl disulfide (MBTS)	1 vas
11 Morpholinylmercapto benzothiazole (MOR)	1 vas
12 N,N-Diphenylguanidine (DPG)	1 vas
13 Zinc diethyldithiocarbamate (ZDC)	1 vas
14 Zinc dibutyldithiocarbamate (ZBC)	1 vas
15 N,N-di-beta-naphtyl 4-phenylenediamine (DBNPD)	1 vas.
16 N-phenyl-2-naphtylamine	1 vas.
17 Hexamethyenetetramine	2 vas.
18 Diaminodiphenylmethane	0,5 vas.
19 Diphenylthiourea (DPTU)	1 vas.
20 Zinc dimethyldithiocarbamate (ziram)	1 vas
21 2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline	1 vas
22 Diethylthiourea (DETU)	1 vas
23 Dibutylthiourea (DBTU)	1 vas
24 Dodecylmercaptan	0,1 vas
25 N-(cyclohexylthio) phthalimide	1 vas
26 2-ter-butyl-4-methoxyphenol (BHA)	2 vas
27 2,6-Ditert-butyl-4-cresol (BHT)	2 vas

Figura 2

el laboratorio Chemotechnique Diagnostics Suecia® y baterías específicas dependiendo de la profesión desarrollada por el paciente.

## RESULTADOS

De los 1.171 pacientes remitidos a este Servicio se estudiaron los que resultaron positivos en el prick test (n = 38) constituyendo un 3,24% del total. Ninguno de los trabajadores con resultado positivo presentó reacción adversa al realizarle la prueba.

De los 38 pacientes estudiados 63% (n = 24) eran mujeres. La media de edad del grupo fue de 35,3 años con un intervalo de edad situado entre 17 y 60 años. La relación mujeres/varones fue de 12/7.

En cuanto a su profesión, los trabajadores del área sanitaria constituyeron el 31% (n = 13) siendo el grupo más numeroso con prick test positivo, seguido de los trabajadores de la construcción que representaban el 13% (n = 5) de la muestra y el resto tenía profesiones varias.

Entre los antecedentes personales cabe destacar que el 69% (n = 16) de los pacientes referían historia previa de atopía.

Respecto a la historia laboral el 63% (n = 24) de los trabajadores estudiados han usado y/o utilizan guantes de látex en mayor o menor medida durante la jornada laboral.

La localización de las lesiones fue mayoritariamente en las manos 81,5% (n = 31) aunque también afectaba a otras localizaciones como los antebrazos.

La clínica más frecuente que presentaron tras el uso de productos con látex fue en primer lugar lesiones eczematosas en el 68% (n = 26), seguido de lesiones urticariformes en el 28% (n = 11) y un caso presentó reacción anafiláctica.

Entre las diferentes profesiones, los trabajadores del sector sanitario fueron los más afectados por UACL (p > 0,05).

Todos los pacientes estudiados tenían niveles de IgE específica al látex mayores o iguales a 0,35 KU/L. Los valores de IgE al látex estaban comprendidos entre 0,35 KU/l y 100 KU/l. El 50% de los trabajadores tenían niveles de IgE específica al látex menor o igual a 5 KU/l y en el 75% de los pacientes su nivel de IgE específica fue menor o igual a 12 KU/l.

La relación entre profesiones y niveles de IgE se representa en el Gráfico 2.

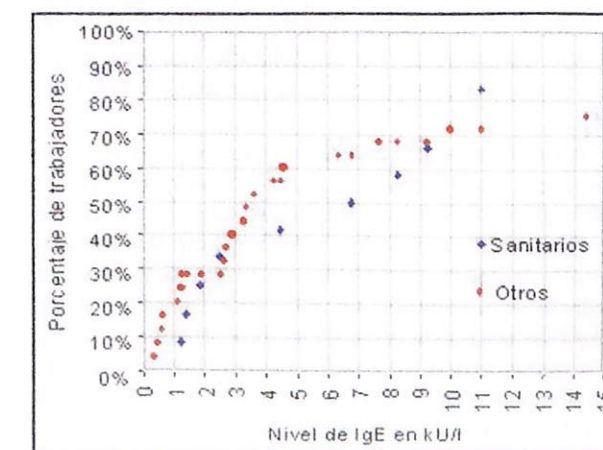


Gráfico 2. Niveles de IgE específica del látex para un grupo de trabajadores con probable dermatitis alérgica al látex.

En las pruebas epicutáneas realizadas con la batería estándar encontramos el 71% ( $n = 27$ ) con pruebas positivas. De ellos las positividades más frecuentes fueron al níquel en 13 pacientes, al cromo en diez casos y al cobalto en ocho trabajadores.

Respecto a los componentes de las gomas de la batería estándar se encontraron una o varias positividades en el 18,4% ( $n = 7$ ) trabajadores siendo la positividad más frecuente al Tiuram Mix ( $n = 5$ ).

En cuanto a las pruebas de los componentes de las gomas de la batería del laboratorio Chemotechnique Diagnostics Suecia® se realizó en 21 pacientes (55%) en base a su historia laboral, obteniéndose resultados positivos a uno o más componentes en el 26,3% ( $n = 10$ ) trabajadores, la positividad más frecuente fue al TETD.

## DISCUSIÓN

Para el diagnóstico de patología dermatológica relacionada con exposición a látex es importante distinguir tres conceptos: la sensibilidad al látex ocurre cuando el paciente aún sin clínica presenta un *prick test* al látex positivo y/o IgE específica al látex elevada. Para el diagnóstico de UACL (urticaria alérgica de contacto al látex) debe existir clínica cuando el paciente se expone al látex y conjuntamente debe existir un *prick test* al látex positivo y/o IgE específica positiva. La dermatitis por contacto alérgica a los componentes de la goma se diagnostica por existencia de clínica y respuesta positiva a las pruebas epicutáneas o de parche.

En nuestro estudio se aprecia un mayor número de mujeres con clínica dermatológica relacionada con productos de látex, al igual que en diversos estudios como el realizado por Holness y cols en población sanitaria en los años 1994-1996 (14).

A pesar que en diversos estudios como en el realizado por Nettis y cols. (6) desde 1999 hasta 2001 se confirma que los antecedentes de atopía aparecen con mayor frecuencia en los sujetos con sensibilización y/o UACL, en nuestro estudio al analizar esta relación se establece que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

Encontramos un mayor número de trabajadores afectados en el sector sanitario seguido de los trabajadores de la construcción confirmando la tendencia de diferentes estudios como en la revisión de casos realizada por Conde-Salazar y cols. (11).

La localización de las lesiones fue mayoritariamente en las manos, seguido de antebrazos lo que confirma que es la zona que está en contacto con el látex la que más frecuentemente se afecta y si esta zona tiene lesionada la epidermis es más factible que se produzca la sensibilización.

Debido a los criterios de selección de nuestro estudio era esperable que los niveles de IgE específica fueran de tipo I o mayores puesto que el *prick test* nos está indicando una respuesta inmunológica en estos pacientes. Existen niveles de IgE específica al látex elevados más frecuentemente entre los trabajadores sanitarios que en otras profesiones. Podría justificarse porque llevan más tiempo puestos los guantes, por la mayor concentración de alérgenos de látex que existe en los centros sanitarios y por la frecuencia del lavado de manos.

Conde-Salazar y cols. en el estudio realizado durante los años 1995-2000 con 505 pacientes (8) encuentran un 21% ( $n = 17$ ) de positividad simultánea a los componentes de las gomas y al látex. En nuestro estudio encontramos la misma tendencia. En personal sanitario o en personal que ha requerido muchas intervenciones quirúrgicas a lo largo de su vida y, por lo tanto, ha estado expuesto con mucha frecuencia a látex y a componentes de las gomas, se ha observado la coexistencia de estos dos tipos de hipersensibilidad (8).

Nettis y cols. (15) en el estudio realizado recientemente a 1.294 trabajadores sanitarios encontraron que la positividad más frecuente a los componentes de las gomas fue al grupo Tiuram coincidiendo con el estudio de Conde-Salazar (8) realizado en 505 pacientes de varias profesiones, estos resultados son similares a los nuestros.

No hay duda de la importancia que implica tener alergia al látex cuando se encuentra formando parte del nuestro entorno laboral y aunque afecta principalmente a los profesionales sanitarios (8), hoy día se observa en otras profesiones como son los trabajadores de la construcción (7), peluqueros (6), manipuladores de alimentos (11).

La existencia de sensibilización al látex puede predisponer con el tiempo y la exposición persistente a productos con látex en el trabajo, a que se desarrolle una dermatitis alérgica por látex con la problemática laboral y social que conlleva el tener que cambiar al trabajador de puesto de trabajo o incluso pedir una incapacidad.

Una solución a este problema sería llevar a cabo en los exámenes de salud periódicos e iniciales, una búsqueda activa en la población trabajadora con alto riesgo de desarrollar un cuadro dermatológico por látex. Realizar una historia clínico-laboral donde se descarten antecedentes de

atopia, intervenciones quirúrgicas previas frecuentes, exposición laboral y/o personal a látex, sintomatología al exponerse al látex y descartar patología dermatológica anterior. En base a estos hallazgos remitir a los trabajadores con alto índice de sospecha a un servicio especializado para su estudio, y conociendo los resultados adaptar el profesograma a el fisiograma del trabajador. De esta forma podríamos prevenir la sensibilización progresiva, el empeoramiento de las lesiones que tienen algunos de estos trabajadores y el desarrollo de UACL. Es necesaria la educación en materia de prevención y salud laboral en los trabajadores que estén expuestos a ambientes con látex en su puesto de trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- HANS DE GROOT, *et al.*: «Prevalence of natural rubber latex allergy (type I and type IV) in laboratory workers in The Netherlands». *Contact Dermatitis*. 1998; 38: 159-163.
- LAFUENTE R F, PIÑOL J, CARAPETO F J. Nuestra experiencia en la sensibilización al látex. *Med Cután Iber Lat Am*. 2002; 30 (3): 85-88.
- KURUP V P, FINK J N. The spectrum of immunologic sensitization in latex allergy. *Allergy*. 2001; 56: 2-12.
- MARINERO S, GÓMEZ-GALLEGO F, BANDRÉS F. Urticaria alérgica de contacto al látex. *Medicina del Trabajo*. 2002; 219-226.
- CONDE-SALAZAR L, GUIMARAENS D, LUELMO L, FERNÁNDEZ COGOLLUDO E, CUEVAS M. Sensibilización al látex: incapacidad de los profesionales sanitarios, peligro para los usuarios. *Medicina y Seguridad del Trabajo*. 1997; 174: 7-16.
- NETTIS E, DAMBRA P, SOCIO A L, FERRANNINI A, TURSI A. Latex hypersensitivity: relations with positive prick test and patch test responses among hairdressers. *Allergy*. 2003; 58: 57-61.
- CONDE-SALAZAR L, GATICA M E, BARCO L, IGLESIAS C, CUEVAS M, VALKS R. Latex allergy among construction workers. *Contact Dermatitis*. 2002; 47: 154-156.
- CONDE-SALAZAR GÓMEZ L, GONZALO GONZÁLEZ I, GATICA M E, CUEVAS M. Hipersensibilidad tipo I al látex y tipo IV a componentes de las gomas. *Med Cután Iber Lat Am*. 2002; 30 (4): 167-171.
- WILKINSON S M. Patch test reactions to natural rubber latex: irritant or allergic? *Contact Dermatitis*. 2000; 42: 179-180.
- TANAKA S, YUKIKO N, YOSHINARI M. Coexistence of immediate and delayed type allergy to natural rubber latex. *Contact Dermatitis*. 2000; 42: 177.
- CONDE-SALAZAR L, LUELMO L, GUIMARAENS D, FERNÁNDEZ COGOLLUDO E, CUEVAS M. Alergia al látex: estudio de 35 casos. *Med Cután Iber Lat Am*. 1997; 15: 345-323.
- ROMAGUERA C, GRIMALT F. PPPP Síndrome. *Contact Dermatitis*. 1977; 3: 102-103.
- BLANCO C, CARRILLO T, ORTEGA N, ÁLVAREZ M, DOMÍNGUEZ C. Comparison of skin-prick test and specific serum IgE determination for the diagnosis of latex allergy. *Clinical and Experimental Allergy*. 1998; 28: 971-976.
- HOLNESS D L, MACE S R. Results of evaluating health care workers with prick and patch testing. *American Journal of Contact Dermatitis*. 2001; 12 (2): 88-92.
- NETTIS E, ASSENNATO G, FERRANNINI A, TURSI A. Type I allergy to natural rubber latex and type IV allergy to rubber chemicals in health care workers with glove-related skin symptoms. *Clinical and Experimental Allergy*. 2002; 32 (3): 441-447.

## Evaluación de los derechos de la persona en situación terminal en un hospital general

José I. Ricarte Díez

Institut Borja de  
**Bioètica**



Universitat Ramon Llull

FUNDACION MAPFRE MEDICINA

Pedidos a:  
Editorial MAPFRE  
E-mail: edimap@mapfre.com  
http://www.mapfre.com/editorial  
Tel.: 91 581 53 57  
Fax: 91 581 18 83

FUNDACION MAPFRE MEDICINA

## FRACTURAS DE LA EXTREMIDAD PROXIMAL DEL FÉMUR

A. FERNÁNDEZ SABATÉ  
F. PORTABELLA BLAVIA

FUNDACION MAPFRE MEDICINA

## ELEMENTOS TRAZA Y METABOLISMO LIPÍDICO



BIOMATERIALES,  
TRASPLANTES E INGENIERÍA  
TISULAR EN CIRUGÍA  
ORTOPÉDICA Y  
TRAUMATOLOGÍA

# BECAS DE FORMACIÓN ESPECIALIZADA 2004

## 1. Objetivo

Estas Becas se convocan con el propósito de facilitar un período de formación especializada sobre temas relacionados con las áreas de actividad de la Fundación, brindando la posibilidad de intercambiar experiencias entre profesionales iberoamericanos y portugueses.

La dotación de estas Becas permiten financiar los gastos de desplazamiento y estancia, para el desarrollo de un programa de actividades formativas por parte de los becarios.

## 2. Áreas de Formación Especializada

La Fundación MAPFRE Medicina ejerce su actividad en los siguientes campos:

- Formación Profesional de Personas con Discapacidad.
- Geriátrica.
- Gestión Sanitaria.
- Medicina Cardiovascular.
- Medicina del Trabajo.
- Rehabilitación.
- Traumatología.

## 3. Condiciones para optar a las becas

1. Ser ciudadano de cualquier país iberoamericano o de Portugal.
2. Aceptar las fechas de incorporación establecidas por la Fundación MAPFRE Medicina.
3. Poseer titulación universitaria.
4. Presentar un proyecto en el que se definan las materias o temas en que se desea recibir formación especializada y que deberán ser relacionadas con las áreas de la actividad de la Fundación.
5. Presentar carta de aceptación del responsable del Centro donde se pretende adquirir esa formación.

## 4. Características de las becas

1. **Duración:** El período de formación será de cuatro semanas. (25 de octubre-19 de noviembre de 2004).
2. En base a los acuerdos de colaboración firmados por la Fundación MAPFRE Medicina con otras instituciones del ámbito iberoamericano, la Fundación podrá establecer que las Becas se desarrollen en dichas instituciones.
3. **Dotación económica:**
  - Becas en España: 2.500 €.
  - Becas en Iberoamérica: 1.800 €.

En cualquiera de los casos, con la dotación económica de las Becas, los becarios deberán sufragarse los gastos de desplazamientos, estancia y manutención durante el período de la Beca.
4. La Fundación MAPFRE Medicina se hará **cargo de las cuotas de inscripción en actividades docentes** a las que asista el becario, siempre que hayan sido autorizadas previamente por la propia Fundación.
5. Cada becario estará cubierto por un **seguro de enfermedad y accidente** durante el período que dure la Beca.
6. La Beca está sujeta a las obligaciones tributarias que marca la Ley Española.

7. **Fallo de la Convocatoria:** La Fundación MAPFRE Medicina fallará la Convocatoria evaluándose todas las solicitudes por medio de un Comité de Expertos en las diferentes áreas. En los casos necesarios, podrá solicitarse ampliación de la información de los candidatos.

**El fallo de la Convocatoria se comunicará en el mes de junio de 2004.**

## 5. Documentos a presentar

La tramitación de solicitudes y la selección de candidatos se realizará según el siguiente protocolo:

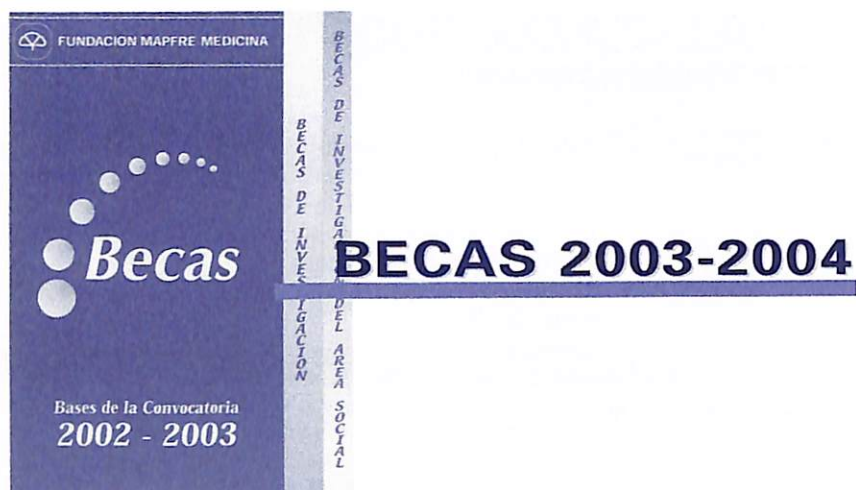
1. **Plazo de presentación:** Las solicitudes de Beca deben ser remitidas al domicilio social de la Fundación, en fecha anterior al **7 mayo de 2004**.
2. **Documentos a presentar:**
  - **Cuestionario de solicitud** con todos los datos cumplimentados.
  - Escrito en el que se especifiquen:
    - Nivel de conocimientos actuales y futura aplicabilidad de la formación que se pretende recibir.
    - Área y temas en los que se desee recibir formación especializada.
  - **Currículum Vitae**, junto con fotocopia de la titulación universitaria y la certificación de estudios con calificaciones obtenidas.
  - **Certificado del centro hospitalario, organismo o instituto** donde se pretende realizar la especialización, indicando que se le acoge en el período de su formación o especialización.

## 6. Obligaciones de los beneficiarios

La aceptación de la Beca por parte del beneficiario implica:

1. Aceptar las normas fijadas en esta convocatoria, así como las que la Fundación MAPFRE Medicina establezca en cada paso para el seguimiento del programa de formación especializada.
2. Cumplir con aprovechamiento y dedicación las distintas etapas del período de especialización, debiendo ajustarse a las normas propias del centro u organismo al que está asignado en cada momento el becario.
3. Presentar en la fecha de terminación de la Beca una memoria que contemple la totalidad del trabajo y actividades realizadas, así como sus resultados.

**Información y presentación de solicitudes**  
FUNDACION MAPFRE MEDICINA  
Ctra. de Pozuelo, 61  
28220 Majadahonda (Madrid). España  
Tels.: 91 626 57 04  
Fax: 91 626 58 25  
e-mail: infomm@mapfremedicina.es  
Internet: http://www.mapfremedicina.es



Reunido el Comité de Valoración para la **Convocatoria de Becas 2003/2004**, y tras el estudio y análisis de los trabajos presentados, se acuerda otorgarlas a los siguientes:

## Becas de Investigación

### Geriatría

#### Dolors Badenes Guía.

Miquel Aguilar i Barbera y Laura Casas Hernández.

Hospital Mutua de Terrassa, de Barcelona.

*Conducción y demencias: Valoración de la capacidad de conducción de vehículos en pacientes con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer leve-moderada.*

#### Manuel Díaz Curiel.

José Espinosa Pineda y Jaime Fernández Velasco Casarrubios.

Fundación Jiménez Díaz.

*Fracturas osteoporóticas en varones: Asociación de polimorfismos genéticos y densidad mineral ósea.*

#### José Ramón González Juantey.

Francisca Lago Paz, José M.<sup>º</sup> García Cuña, Roberto Piñeiro Cid, M.<sup>º</sup> Jesús Iglesias Mareque y Patricia Fernández Calvo.

Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.

*Estudio de los niveles plasmáticos de distintas hormonas implicadas en el síndrome metabólico (Ghrelin, adiponectina, leptina) en pacientes geriátricos con cardiopatía isquémica-síndrome coronario agudo.*

#### Antonio Hernández Madrid.

Enrique Bernal e Irene Marín. Hospital Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá de Henares, de Madrid.

*Manejo de la insuficiencia cardíaca en geriatría. Evaluación de la utilidad y limitaciones de los niveles de BNP para el diagnóstico inicial y la monitorización de la respuesta terapéutica.*

### Gestión Sanitaria

#### M.<sup>º</sup> Luz Cilleruelo Pascua.

Juana Jiménez, Eduardo Arranz, José Antonio Garrote, Ángel Arregui y Enriqueta Román.

Hospital Severo Ochoa, de Leganés. Madrid.

*Utilización del estudio genético (DQ2 y DQ8) como primer paso en el despistaje de enfermedad celiaca en población general infantil.*

#### Ana Garriga Domínguez.

Susana Álvarez González y Rosa M.<sup>º</sup> Ricoy Casas.

Facultad de Derecho de la Universidad de Vigo.

*Acceso y cesión de la información genética contenida en la historia clínica.*

#### Xavier Gómez-Batiste.

Rosa Roca Casademont y Jesús González Barboteo.

Institut Catalán de Oncología, Hospital Durán y Reynals, de Barcelona.

*Efectividad en el control sintomático de los equipos de cuidados paliativos en España: estudio descriptivo, observaciones, de cohorte, multicéntrico.*

#### Jaime Marañón López.

Francisco Javier Nieto Lorite y M.<sup>º</sup> Reyes Caballero González.

Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad de Sevilla.

*Implantación de un programa de gestión de la prevención de riesgos laborales en el sistema de gestión de calidad de un laboratorio clínico para la optimización de costes.*

#### Carmen Porcar Rivero.

Delia García Sureda.

Centro de Alto Rendimiento Deportivo de Sant Cugat del Vallés-Escuela Universitaria Blanquerna de la Universidad Ramón Llull, de Barcelona.

*Enseñar a los deportistas a cuidar de sí mismos (formación para la prevención de lesiones y conducta a seguir frente a las incidencias traumáticas más frecuentes, que todo deportista debería conocer).*



**Miguel Ruiz-Canela López.**  
Pilar León Sanz, José López Guzmán y Luis Echarte Alonso.  
Universidad de Navarra.  
Análisis y valoración ética de la investigación farmacogenómica.

### Medicina Cardiovascular

#### Ángel Arenal Maiz.

Felipe Atienza, Julio Osende, Esteban González Torrecilla, Alberto Pucho y Jesús Almendral.

Hospital General Universitario Gregorio Marañón, de Madrid.

*Identificación y análisis de las bases electrofisiológicas de los predictores no invasivos de recurrencia de fibrilación auricular. Estudio prospectivo en pacientes con fibrilación auricular paroxística y persistente sometidos a desconexión de las venas pulmonares.*

#### Antoni Bayes-Genis.

Santiago Roura Ferrera y Juan Cinca.

Laboratorio Fisiología Celular, Servicio de Cardiología, del Hospital de la Sta. Creu i Sant Pau, de Barcelona.

*Aislamiento de células madre humanas derivadas de médula ósea: estudio de su pluripotencialidad y correlación entre donantes jóvenes y ancianos.*

#### Josep Brugada Terradellas.

Hospital Clinic de Barcelona.  
*Utilidad del desfibrilador implantable en pacientes con síndrome de Brugada.*

#### Juan Cinca Cusculola.

Leif Hove-Madsen y Anna Llach.

Laboratorio Fisiología Celular, Servicio de Cardiología, del Hospital de la Sta. Creu i Sant Pau, de Barcelona.

*Efecto del estrés mecánico sobre la entrada de calcio transmembrana en miocardiocitos aórticos humanos.*

#### Ángel L. Fernández González.

Amparo Martínez Monzonis, José B. García-Bengochea, Julián Álvarez Escudero, Juan Lagunilla Herrero y Valentín Carueño Rodríguez.

Hospital Clínico Universitario de Santiago. Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela.

*Ecocardiografía epiaórtica intraoperatoria. Diagnóstico de la aterosclerosis de la aorta ascendente mediante ecografía epiaórtica en pacientes intervenidos de pontaje aorto-coronario. Implicaciones en la prevención de la ateroembolia cerebral perioperatoria.*

#### Antonio Hernández Madrid.

Carlos Escobar, Irene Marín y Enrique Bernal.

Hospital Ramón y Cajal y Universidad de Alcalá de Henares, Madrid.

*Resincronización cardíaca. Impacto socioeconómico sanitario. Mortalidad de procedimiento. Relación coste-beneficio. Impacto en la clase funcional/calidad de vida. Pronóstico y seguimiento.*

#### Antonio Hernández Madrid.

Irene Marín, Enrique Bernal y Carlos Escobar.

Hospital Ramón y Cajal y Universidad de Alcalá de Henares, Madrid.

*Ablación transcatóter por radiofrecuencia de las venas pulmonares. Criterios de selección de pacientes. Relación coste beneficio e implicaciones socio-económico-sanitarias.*

#### Juana Merino Roncal.

Ignacio García Bolao, Alfonso Sánchez Ibarrola, Natalia Ramí-

rez Huerto y Fernando Pastor Rodríguez.

Clinica Universitaria de Barcelona.

*Estudio de linfocitos T específicos de Chlamydia pneumoniae en pacientes con arteriosclerosis coronaria: correlación con la severidad de la enfermedad.*

#### Lluís Mont Girbau.

Ernesto Díaz Infante y Josep Brugada Terradellas.

Unidad de Arritmias. Instituto de Enfermedades Cardiovasculares, del Hospital Clinic de Barcelona.

*Estudio de predictores de ausencia de mejoría clínica mediante la estimulación biventricular en el fallo cardíaco avanzado.*

#### M.<sup>º</sup> Esther Rendal Vázquez.

José M.<sup>º</sup> Herrera Noreño, Constancio Medrano López, Claudio Zavanella Botta, Margarita González Cuesta, Candido Andion Núñez y Nieves Domenech García.

Complejo Hospitalario Juan Canalejo, de A Coruña.

*Cardiomioplastia celular con mioblastos autólogos en ovejas con cardiomiopatía dilatada.*

#### Eulalia Roig Minguell.

José Tomás Ortiz Pérez y Montserrat Batlle.

Institut de Investigacions Biomèdiques August Pi y Sunyer (IDIBAPS) Hospital Clinic de Barcelona.

*Estudio de la vasculopatía del injero cardíaco: expresión del factor de crecimiento derivado de los fibroblastos, trombospondina-1 y el factor de crecimiento transformante-B en biopsias endomiocárdicas seriadas y su asociación con el desarrollo precoz de la vasculopatía detectada por ecografía intravascular.*

**M.<sup>a</sup> José Ruiz Cano.**

Unidad de Arritmias, Servicio de Cardiología, del Hospital 12 de Octubre, Hospital Clínico de Barcelona, Hospital La Paz de Madrid y Hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia.

*Valor de monitorización ambulatoria de ECG para la predicción de eventos arrítmicos en el síndrome de Brugada.*

**José Sabán Ruiz.**

Rosa Fabregate Fuente y Elena Sánchez Largo Uceda.

Unidad de Patología Endotelial, Servicio de Medicina Interna del Hospital Ramón y Cajal, de Madrid.

*Modificación secuencial del régimen de vida en pacientes con síndrome X. Comportamiento de los niveles séricos de citocinas, grado de insulinresistencia y función endotelial.*

**José Suárez de Lezo Cruz-Conde.**

Antonio Torres Gómez, Manuel Paz Álvarez-Ossorio, Inmaculada Herrera Arroyo, Miguel Romero Moreno, Joaquín Sánchez García, José Segura Saint-Gerons y Djordje Pavlovic.

Hospital Universitario Reina Sofía, de Córdoba.

*Regeneración tras infarto de miocardio tratado con revascularización: 1) inyección intracoronaria de progenitores hematopoyéticos, o 2) movilización masiva de los mismos con factor G-CSF. Estudio comparativo.*

**Mariano Valdés Chavarri.**

M.<sup>a</sup> José Antolinos Pérez, Domingo Andrés Pascual Figal, José María Moraleda, Josefa Carrillo González, Miguel Blanquer Blanquer y Francisco Miguel Ruiz Marcos.

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, de Murcia.

*Terapia de regeneración del infarto agudo de miocardio con células stem (Trim-Cs).*

**Medicina Clínica y Laboral**

**Fernando Bandrés Moya.**

Luis Reinoso Barbero, Félix Gómez Gallego y Catalina Santiago Dorrego.

Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

*Marcadores biológicos de riesgo cardiovascular en población laboral.*

**Carmen Echevarría Ruiz de Vargas.**

José Antonio Expósito Tirado, Manuel Rodríguez-Piñeiro Durán, José Antonio Olmo Vega, Patricia Ferrand Ferri y Jorge Rodríguez García.

Hospital de Rehabilitación y Traumatología, Virgen del Rocío de Sevilla.

*Reincorporación laboral y factores pronósticos de los pacientes con infarto agudo de miocardio.*

**M.<sup>a</sup> Soledad Gómez Alcalde.**

Clínica Médico-Forense de Alcalá de Henares y la Facultad de Medicina de la Universidad de Alcalá de Henares.

*Lesiones cervicales por accidente de tráfico: mantenimiento de la cervicalgia, su valoración como secuela y su relación con las condiciones de trabajo y actividad laboral.*

**Bartolomé Llor Esteban.**

Aurelio Luna Maldonado, Mariano García Izquierdo, Concepción Sáez Navarro, Montserrat Sánchez Ortuño y José Ramón Blasco Espinosa.

Servicio de Ergonomía y Psicosociología Aplicada de la Universidad de Murcia. Departamento de Ciencias Socio-Sanitarias, Departamento de Psiquiatría y Psicología Social y Departamento de Enfermería de la Universidad de Murcia.

*Condiciones de trabajo y cervicalgias: Variables psicosociales y de personalidad asociadas a cervicalgias recurrentes.*

**José M.<sup>a</sup> Tenias Burillo.**

Carles Mayordomo Fernández y Vicente Escriba Aguir.

Hospital Lluís Alcanyis de Xativa, Valencia.

*Impacto de las condiciones de trabajo sobre la abstinencia laboral por problemas osteomusculares en personas hospitalario. Estudio de seguimiento de cinco años.*

**Neurociencias**

**José Antonio Adrián Torres.**

Eva M.<sup>a</sup> Arroyo Anllo, Juan José Buiza Navarrete y Pablo Hermoso Madrona.

Facultad de Psicología de la Universidad de Málaga.

*Programa computerizado de rehabilitación neurocognitiva de los trastornos de la denominación: CARP-2.*

**José Ángel Armengol Butrón de Mujica.**

Eva M. Pérez Villegas, Virginia Gómez Bautista y Silvia Helena Madalosso.

División de Neurociencias, de la Universidad Pablo de Olavide, de Sevilla.

*Estudio de los inhibidores de las proteincinasas como protectores de la muerte neuronal y facilitadores del recrecimiento axonal en los procesos neurodegenerativos.*

**Eulalia Bazán Izquierdo.**

Juan José Díaz Gil, Diana Reimers Cerda, M.<sup>a</sup> Val Toledo Lobo, Antonio Sánchez Herranz y Carlos Luis Paino Belarrinaga.

Hospital Ramón y Cajal, de Madrid.

*LGF (Liver Growth Factor) como factor de proliferación, migración y diferenciación de las células madre neurales y su posible utilidad en enfermedad de Parkinson.*

**Lucinda Cacicedo Egües.**

Nuria Palacios García, Miriam Fernández Fernández e Isabel Sánchez Muñoz.

Servicio de Endocrinología, del Hospital Ramón y Cajal, de Madrid.

*Alteraciones neurodegenerativas en el envejecimiento relacionadas con el eje somatotropo.*

**Ramiro Díez Lobato.**

Alfonso Lagares Gómez-Abascal, Pedro Antonio Gómez López, Ana Ramos y Rafael Alday Anzola.

Servicio de Neurocirugía, del Hospital 12 de Octubre, de Madrid.

*Valor pronóstico de la RM craneal en el traumatismo craneoencefálico grave y moderado.*

**Alejandro Frangi Caregnato.**

M. Hernández, J. R. Cebral, C. M. Putman y J. E. Burgess.

Universidad de Zaragoza, George Mason University, Inova Fairfax Hospital.

*Análisis del rol de la hemodinámica en aneurismas cerebrales basada en dinámica computación de fluidos personalizada mediante técnicas de imágenes angiográficas 3D.*

**Rosa Larumbe Ilundain.**

Fundación ASPACE, Navarra.

*Evaluación de un programa de neurorehabilitación dirigido a ni-*

*ños con parálisis cerebral basado en el método PETÖ o educación conductiva.*

**Juan Antonio Rey Herranz.**

Eva Alonso Fernández, Pilar González Gómez e Isabel López Marín.

Hospital Universitario La Paz. Unidad de Investigación. Cirugía Experimental. Madrid.

*Valoración del perfil de hipermetilación génica como marcador de agresividad biológica en tumores neurogénicos.*

**Adolfo Toledano Gasca.**

M.<sup>a</sup> Isabel Álvarez Vicente.

Instituto Cajal, CSIC. Madrid.

*Definición de alteraciones de los fenómenos de neuroplasticidad y adaptación del Sistema Nervioso en las enfermedades neurodegenerativas cuya corrección puede desarrollar tratamientos preventivos o curativos eficaces.*

**Jesús Vaquero Crespo.**

Unidad de Investigación de Neurociencias. Hospital Universitario Clínica Puerta de Hierro, de Madrid.

*Diferenciación neuronal in vitro de células madre mesenquimales obtenidas de médula ósea humana.*

*Implante intralesional de células madre adultas en la paraplejia crónica de origen traumático. Estudio experimental en la rata Wistar.*

*Efectos del cotrasplante de células de Schwann y células madre mesenquimales en la paraplejia humana.*

**Psicología Clínica y de la Rehabilitación**

**Esther Calvete Zumalde.**

Elena López de Arroyabe Castillo.

Universidad de Deusto en colaboración con la Asociación de Daño Cerebral Adquirido y Familiares de Bizkaia y País Vasco y la Federación Nacional de Asociaciones de Daño Cerebral Sobrevenido (FEDACE).

*Impacto del Daño Cerebral Adquirido en familias: necesidades, estrategias de afrontamiento y síntoma de estrés.*

**Begoña Matellanes Febrero.**

Miren Josune Martín Corral.

Departamento de Psicología de la Facultad de FICE, de la Universidad de Deusto (Bilbao), en colaboración con el Hospital de Galdakao (Vizcaya).

*Intervención psicológica en pacientes con cáncer de pulmón.*

**Begoña Rodríguez Ortiz de Salazar.**

Ana Gómez Gallego, Aurea García Parra e Itziar López Gómez.

Unidad Médica del Equipo de Valoración de Incapacidades del INSS. Dirección Provincial del INSS y Facultad de Medicina de la Universidad de Alcalá de Henares.

*Sintomatología depresiva asociada al trabajo, en pacientes en situación de incapacidad temporal en Madrid.*

**Rehabilitación**

**Mariano Tomás Florez García.**

Carmen Echavarrí Pérez, Fernando García Pérez, Serafina Alcántara Bumbiedro, Begoña Valle Martín, Alicia Urraca Gesto y Juana Alañón Caballero.

Servicio de Rehabilitación, de la Fundación Hospital Alcorcón, de Madrid.

*Diseño y desarrollo de una aplicación informatizada para la escala de incapacidad por dolor lumbar de Oswestry.*

**Josep M.ª Muniesa Portoles.**  
Marta Tejero, María Bonafont, Roser Boza y Esther Sebastia.  
Servicio de Rehabilitación y Medicina Física del Hospital de la Esperanza, IMAS.  
*Incontinencia urinaria de esfuerzo y ejercicios de suelo pélvico. Estudio comparativo entre la eficacia de un entrenamiento individualizado vs instrucciones básicas.*

**Traumatología**

**Luis Álvarez Galovich.**  
Concepción de la Piedra Gordo y M.ª Teresa Carrascal Morillo.  
Servicio de Traumatología, de la Fundación Jiménez Díaz, de Madrid.

*Evaluación de la acción osteogénica ejercida por la adicción de osteoblastos procedentes de un cultivo primario al fosfato cálcico, como material de aloinjerto, en la artrodesis de columna.*

**Eusebio Bernabeu Martínez.**  
Concepción de la Piedra, Carlos Vicario, Alicia Larena y David A. Cáceres.  
Laboratorio de Bioquímica de la Fundación Jiménez Díaz, Centro de Rehabilitación FREMAP,

ETS Ingenieros Industriales Universidad Politécnica de Madrid.  
*Aplicaciones del quitosano como biomaterial (II): Estudio de la penetración de condrocitos y osteoblastos en cultivo en quitosano/análisis por medios ópticos.*

**Miguel Enrique del Valle Soto.**  
Antonio Maestro Fernández, Luis Rodríguez López, José Antonio Vega Álvarez y Olivia García Suárez.  
Departamento de Morfología y Biología Celular. Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo.

*Efectos biológicos del factor de crecimiento derivado de las plaquetas sobre el sistema musculoesquelético: estudios in vivo e in vitro.*

**José Manuel García Castellano.**  
Carmen Xiomara Pérez Hernández, Octavio Hernández Peñate, Raquel Gloria Díaz Peñate.  
Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín.

*Papel de los estrógenos circulantes y los sintetizados in situ, vía aromatización de los andrógenos, en la expresión de VEGF, neovascularización y enfermedad metastásica. Estudio in vivo en la*

*línea celular de osteosarcoma de rata UMR-106.*

**Íñigo Izal Azcarate.**  
Francisco Forriol y Purificación Ripalda.  
Laboratorio de Ortopedia Experimental, de la Universidad de Navarra.

*Estudio del efecto del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) sobre un modelo de daño articular en rata.*

**Alicia Larena Pellejero.**  
Carlos Vicario y David Antonio Cáceres Mollor.  
E.T.S. Industriales Universidad Politécnica de Madrid y Centro de Rehabilitación FREMAP.  
Aplicaciones del quitosano como biomaterial (I).

**M.ª Dolores Miñana Giménez.**  
Araceli Encabo Balbín, Pilar Sepúlveda Sanchis, Francisco Carbonell Uberos y Vicente Mirabet Lis.  
Instituto de Biología Celular de la Agencia Valenciana de Ciencia y Tecnología y Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana.  
*Aislamiento y expansión de células pluripotenciales de médula ósea. Diferenciación condrogénica para reparación de cartilago.*

**Francisco Rodríguez Santos.**  
Ana Pardo, Vicenta Sánchez, Macarena Centenera, Glauca del Burgo, Susana García y M.ª Jesús Reyes.  
ASTRANE. Atención Socio-sanitaria en Trastornos Neurológicos.  
*La clasificación internacional del funcionamiento de la discapacidad y la salud (CIF) de la OMS como sistema de registro y seguimiento de la rehabilitación en personas con trastornos neu-*

**BECAS DE INVESTIGACIÓN DEL ÁREA SOCIAL**

**Cecilia Pérez-Minguez Asariego.**  
Araceli Galindo Laguna.  
Federación Menudos Corazones y Diversos Hospitales de la Comunidad de Madrid.  
*Proyecto de intervención psicológica en las familias de niños con cardiopatías congénitas: Aná-*

*lisis de las relaciones interpersonales en el medio familiar y hospitalario.*  
**M.ª Cristina Miralles Isern**  
ASNIMO (Asociación Síndrome de Down de Baleares).  
*Programa preescolar para niños con síndrome de Down.*

*rológicos: determinación de procedimientos de evaluación para incrementar la objetividad de los calificadores de discapacidad y situación de minusvalía.*

**Beatriz López Villar.**  
Fundación ACAI-TLP (Asociació Catalana d'Ajuda i Investigació del Trastorn Límit de la Personalitat).

*Creación de un servicio de inserción laboral para personas con TLP (Trastorno Límite de la Personalidad).*

**Geriatría**

**Gaby Roxana Sayán Cáceres.**  
Nacionalidad: Peruana.  
Centro de investigación: Instituto Universitario de Evaluación Sanitaria-Universidad Complutense de Madrid.  
Título: Proyecto de opciones de mejores de hospital de día, del Servicio de Geriatría del Hospital Clínico San Carlos.

**Gestión Sanitaria**

**Beatriz Camussi de Roldán.**  
Nacionalidad: Argentina.  
Centro de investigación: Hospital J. M. Cullén, de Argentina.  
Título: Programa de apoyo al sistema de calidad.

**Medicina Cardiovascular**

**Viviana Serra Tomás.**  
Nacionalidad: Argentina.  
Centro de investigación: Hospital Clínico San Carlos, de Madrid.  
Título: Evaluación de la estenosis mitral mediante el uso de una nueva tecnología: Ecocardiograma tridimensional en tiempo real.

**Medicina Clínica y Laboral**

**Joaquín Hechavarría Miyares.**  
Nacionalidad: Cubana.  
Centro de investigación: Instituto Nacional de Silicosis, de Asturias.  
Título: Establecimiento de un sistema de vigilancia para el diagnóstico, la prevención y control de las enfermedades respiratorias ocupacionales en Cuba.

**IV Congreso Internacional de las Ciencias del Fútbol**

Las Rozas (Madrid), 16-18 de septiembre de 2004

Secretaría técnica:  
D.ª Ruth Escobar  
Tels.: 696 96 38 40 - 91 398 43 00 ext. 84552  
Fax: 91 398 43 67  
E-mail: rescobar@realmadrid.es  
www.realmadrid.com

# MAPFRE MEDICINA

## Boletín de Suscripción

La FUNDACIÓN MAPFRE MEDICINA distribuirá su Revista a todas aquellas personas o entidades que soliciten recibirla, para lo cual deberán cumplimentar el boletín de suscripción adjunto y remitirlo a:

Revista MAPFRE MEDICINA  
Ctra. de Pozuelo a Majadahonda, s/n  
28220 MAJADAHONDA (Madrid)

A/A. Secretaría de Redacción

Fecha: .....

Nueva suscripción       Cambio de domicilio

Nombre: .....

Apellidos: .....

Centro de Trabajo: .....

Cargo: .....

Especialidad: .....

Dirección en la que recibir la revista: .....

Población: .....

Provincia: .....

País: ..... C.P.: .....

Teléfono: ..... E-mail: .....

Dirección que nos facilita:      Empresa       Domicilio

Marcar con una X cuando el suscriptor sólo quiere recibir la revista.

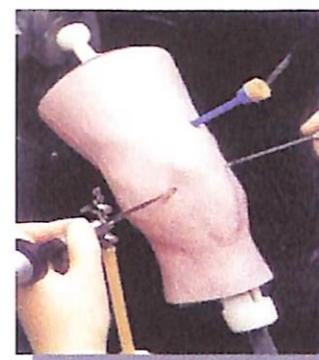
NOTA: Los datos personales relativos a los suscriptores de la revista que vengán incluidos en el boletín serán incorporados al fichero de Fundación MAPFRE Medicina, registrado en el Registro General de Protección de Datos. Dichos datos se destinarán a facilitarles las actividades que desarrolla la Fundación MAPFRE Medicina: ayudas y becas de investigación, cursos, seminarios, master, jornadas. Si el suscriptor de la revista desea oponerse, acceder, rectificar o cancelar alguno de estos datos, conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal, deberá dirigirse a la Fundación MAPFRE Medicina.



FUNDACION MAPFRE MEDICINA



FUNDACION MAPFRE MEDICINA



## XXIV CURSO INTERNACIONAL DE PATOLOGÍA DE RODILLA (curso teórico-práctico) Prácticas de iniciación a la artroscopia, ligamentoplastia, implante meniscal de condrocitos y sutura meniscal

Majadahonda, 24-26 de marzo de 2004

Salón de actos de FREMAP  
Ctra. Pozuelo, 61 - Majadahonda (Madrid)

### PROGRAMA

#### Miércoles, 24 de marzo

- 8,00 Entrega de documentación
- 8,15 Inauguración
- 8,30 Exploración clínica de la rodilla  
*F. Ladero*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 9,00 Exploración radiológica I  
*F. Herraiz*  
Ruber Internacional. Madrid
- 9,30 Exploración radiológica II  
*F. Herraiz*  
Ruber Internacional. Madrid
- 10,00 Café
- 10,30 Menissectomía artroscópica  
*P. García-Polo*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 11,00 Función meniscal. Artrosis postmenissectomía  
*F. Samsó*  
Hospital FREMAP. Barcelona
- 11,30 Sutura meniscal  
*A. Esteve*  
Clínica Ntra. Sra. de América. Madrid
- 12,00 Implante meniscal de colágeno  
*J. C. Monllau*  
Hospital de Mar. Barcelona
- 12,30 Implante meniscal. Experiencia clínica  
*J. C. Monllau*  
Hospital del Mar. Barcelona
- 13,00 Trasplante meniscal. Fundamentos biológicos  
*F. Forriol*  
Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona
- 13,30 Debate
- 14,00 Comida de trabajo
- 15,30 Artrofibrosis  
*C. Vicario*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 16,00 Luxaciones de rodilla  
*J. Vaquero*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 16,30 Artritis séptica  
*J. J. Asenjo*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)

- 17,00 Pautas para el tratamiento rehabilitador tras ligamentoplastia  
*M. Miranda*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 17,30 Finalización jornada

#### Jueves, 25 de marzo

- LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR**
- 8,30 Historia natural del ligamento cruzado anterior  
*J. A. Llopis*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 9,00 Ligamentoplastia ST-RI (2T)  
*P. Guillén*  
Clínica CENTRO. Madrid
- 9,30 Ligamentoplastia HTH  
*F. Samsó*  
Hospital FREMAP. Barcelona
- 10,00 Ligamentoplastia aloinjerto liofilizado  
*J. I. Pitillas*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 10,30 Debate
- 11,00 Café
- 11,30 Fijación de plastia LCA mediante varillas de ácido poliláctico (Rigidfix)  
*J. A. Llopis*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 12,00 Fijación de plastia LCA mediante sistema Swing-Bridge  
*J. Vaquero*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 12,30 Reconstrucción de LCA mediante aloinjerto criopreservado  
*E. Escribano*  
Hospital Ruber Internacional. Madrid
- 13,00 Causas de fracasos en ligamentoplastias  
*J. M. Madrigal*  
Hospital FREMAP. Sevilla
- 13,30 Debate
- 14,00 Comida de trabajo
- LIGAMENTO CRUZADO POSTERIOR**
- 15,00 Reconstrucción LCP. Lesiones aisladas  
*R. Cugat*  
Hospital del Mar. Barcelona

- 15,30 Reconstrucción LCP. Lesiones Combinadas  
*R. Cugat*  
Hospital del Mar. Barcelona
- 16,00 Tratamiento de las inestabilidades postero-externas  
*A. Maestro*  
Hospital FREMAP. Gijón (Asturias)
- 16,30 Tratamiento actual de las lesiones condrales  
*F. López-Oliva*  
Hospital FREMAP. Majadahonda (Madrid)
- 17,00 Debate
- 18,00 Finalización jornada

#### Viernes, 26 de marzo

- Prácticas en rodillas de cadáver en la Cátedra de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid
- 8,00 Introducción  
*J. A. Llopis*  
Anatomía quirúrgica de la rodilla  
*J. I. Pitillas*  
Obtención y preparación de los tendones ST/RI para la reconstrucción del LCA  
*J. Vaquero*  
Túneles óseos y fijación de la plastia  
*A. Maestro*  
Tratamiento y sutura de las lesiones meniscales  
*J. L. Gutiérrez*
- 14,00 Comida
- 15,00 Implante meniscal de colágeno  
Implante de condrocitos
- 17,00 Clausura

Información e Inscripciones:  
Fundación MAPFRE MEDICINA  
Sra. Sol Conde Maza  
Ctra. Pozuelo, 61  
28220 Majadahonda (Madrid)  
e-mail: infomm@mapfremedicina.es

# Capsidol

Crema de Capsaicina al 0,025%

El analgésico tópico de nueva generación

Mecanismo  
neuroanalgésico

Aprobado  
FDA

Bloquea la transmisión del dolor articular y muscular por inhibición de la sustancia P

**COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA** Cada 100 g contienen: oleoresina de capsico (expresada en Capsaicina), 0,025 g. (1 g de crema contiene: 0,00025 g de capsaicina). **Excipientes** (miristato de isopropilo, ácido esteárico, propilenglicol, monomiristato de glicerina, dietanolamina cetil fosfato, alcohol cetílico, alcohol bencílico, diazolidinilurea, p-hidroxibenzoato de metilo sódico, p-hidroxibenzoato de propilo, agua purificada) c.s. **FORMA FARMACÉUTICA** CAPSIDOL se presenta en forma de crema. **DATOS CLÍNICOS** Indicaciones terapéuticas. Alivio sintomático de dolores musculares o articulares localizados. **Posología y forma de administración:** Aplicar una fina capa de producto sobre la zona afectada, extendiéndola suavemente. Repetir la aplicación 3 ó 4 veces cada día. Conviene lavarse las manos con agua fría y jabón inmediatamente después de cada aplicación, así como evitar el contacto del producto con ojos y mucosas. **Contraindicaciones:** Esta especialidad es de uso exclusivamente tópico, y debe evitarse su aplicación sobre la piel irritada, quemada o herida, así como sobre ojos y mucosas. Antecedentes de alergia a sus componentes. No utilizar en niños menores de 2 años. **Advertencias y precauciones especiales de empleo.** Este preparado es de exclusivo uso externo. Si los dolores persisten más de 7 días o empeoran, o se produce irritación o enrojecimiento, consultar al médico. No aplicar calor ni vendajes apretados. No utilizar de forma prolongada ni en áreas extensas. **Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción.** Las posibles interacciones de esta especialidad con otros medicamentos tópicos, no son conocidas. **Embarazo y lactancia.** No se han descrito alteraciones en estos supuestos. La cantidad teórica de capsaicina que puede recibir el lactante por la leche materna no es significativa y no implica riesgo, considerando su atoxicidad.

**Efectos sobre la capacidad para conducir vehículos y utilizar maquinaria.** El empleo de CAPSIDOL no altera la capacidad para conducir vehículos y utilizar maquinaria. **Efectos indeseables.** El principal efecto indeseable descrito es la reacción de ardor inicial que se produce tras la aplicación del producto. Esta reacción suele disminuir con el tiempo a medida que prosigue el tratamiento a la dosis recomendada. En algunas personas, reacciones alérgicas (quemazón o picor). En este caso suspender el tratamiento. **Sobredosisificación.** La intoxicación aguda es prácticamente imposible con el uso adecuado de la especialidad. En caso de ingestión accidental o contacto con los ojos, se recomienda acudir a un centro médico indicando la cantidad ingerida. **PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS** **Propiedades farmacodinámicas.** Aunque el mecanismo de acción preciso de la capsaicina no está aún perfectamente elucidado, la evidencia actual sugiere que su efecto farmacológico está basado en una depleción de la sustancia P, y en la prevención de su reacomulación en las neuronas sensitivas periféricas, lo que induce una reducción de la sensibilidad al dolor en la piel y las articulaciones. **DATOS FARMACÉUTICOS** **Instrucciones de uso y manipulación.** No requiere instrucciones especiales de uso y manipulación. **Presentación y PVP** Tubo con 30 g de crema. PVP IVA 11,20 €. Tubo con 60 g de crema. PVP IVA 14,50 €. Sin receta médica. Especialidad publicitaria. No reembolsable por el Sistema Nacional de Salud. Fecha de Revisión de la Ficha Técnica: Enero 1995.

tubo 60 g  
2 meses de  
tratamiento



C.N. 650036

tubo 30 g  
1 mes de  
tratamiento



C.N. 695296



Laboratorios Viñas sa

Provenza, 386 - 08025 Barcelona