

EL CONSENTIMIENTO INFORMADO ¿UN RIESGO PARA LA INFORMACIÓN DEL PACIENTE?

Generación e implantación de piel artificial creada por ingeniería de tejidos fabricada en Granada: un modelo de medicina traslacional

Espectro clínico y genético de la muerte súbita cardíaca en el deporte

Diferenciación epitelial *in vitro* de células mesenquimales troncales humanas (hCMTs) de tejido adiposo (TA) y médula ósea (MO): caracterización celular y estudio de expresión de HLA I y II

Listado de verificación quirúrgica: buscando la implicación de profesionales y pacientes

Optimización del cultivo de queratinocitos humanos para el desarrollo de un modelo de piel artificial humana: alternativas celulares como capa alimentadora

La asistencia transfronteriza en terapias avanzadas: análisis sobre una nueva realidad en salud

Enfermedad de Tarui: revisión y perspectivas bioinformáticas

Síndrome de Lemierre, una complicación grave de la sinusitis aguda

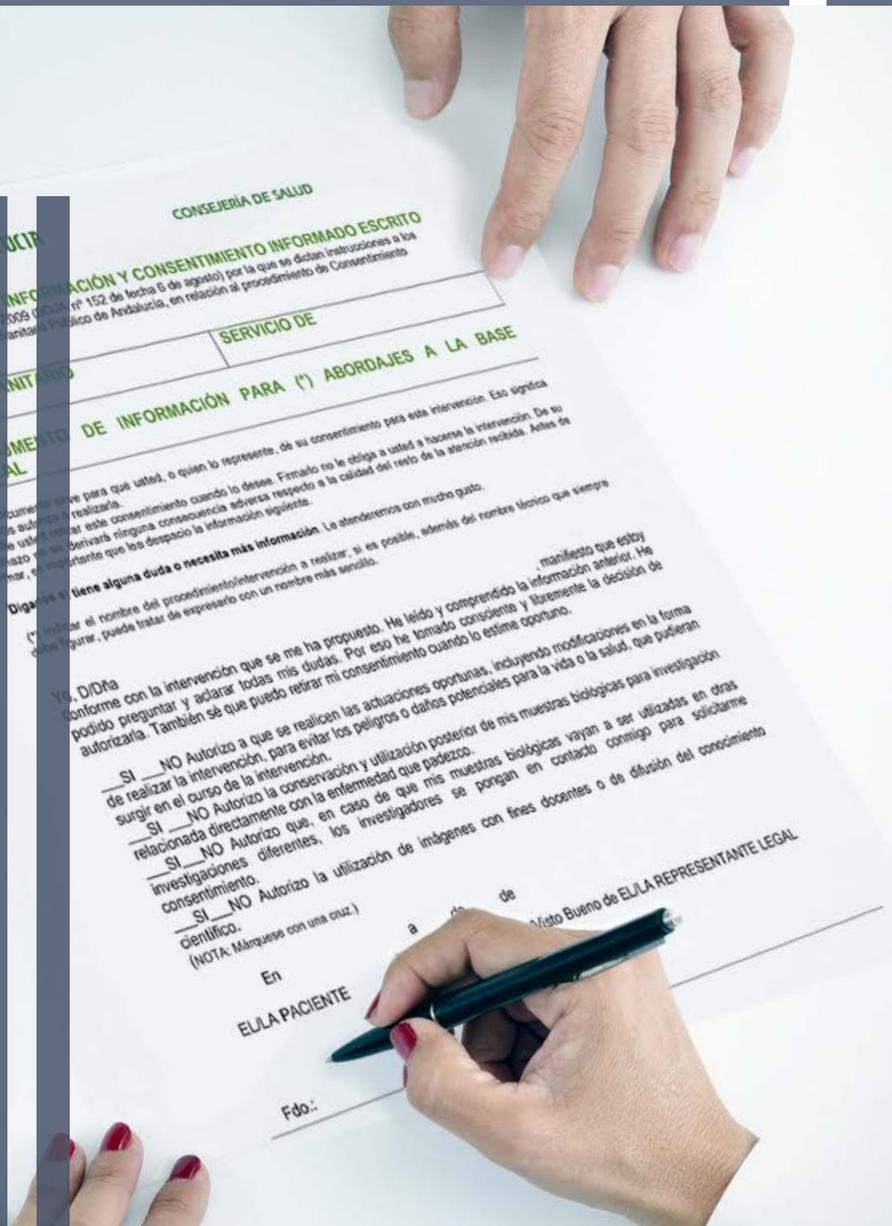
Bilateral jaw fracture after long term treatment with bisphosphonates. A case report

Derecho sanitario

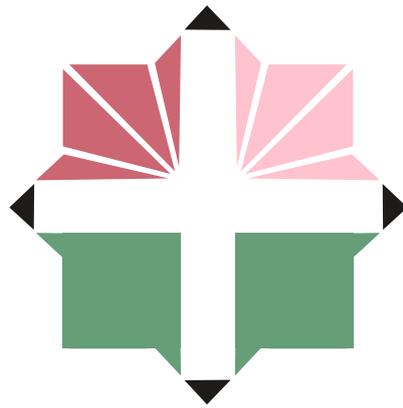
Conmemoraciones y aniversarios

Cartas al editor

Aulas de oncología



Con el patrocinio de:



FUNDACIÓN BENÉFICA ANTICÁNCER
San Francisco Javier y Santa Cándida
Gran Cruz de Beneficiencia. Distintivo Blanco

ACTUALIDAD
M É D I C A
www.actualidadmedica.es

Comité editorial

Editor

Salvador Arias Santiago
Complejo Hospitalario de Granada. España

Editores adjuntos

Miguel González Andradas
Harvard Medical School, Boston, MA. EEUU

Miguel Ángel Arrabal Polo
Hospital de Huerca Overa (Almería). España

Juan Jiménez Jaimez
Complejo Hospitalario de Granada. España

Miguel Ángel Martín Piedra
Facultad de Medicina de Granada

Comité científico y asesor

Manuel Díaz-Rubio
Real Academia Nacional de Medicina
Madrid, España

Jorge Alvar Ezquerro
OMS
Ginebra, Suiza

Juan Rodés Teixidor
Hospital Clinic
Barcelona, España

Pasquale Quattrone
Istituto Nazionale dei Tumori
Milán, Italia

Comité de redacción

Luis Javier Aróstegui Plaza
M. Nieves Gallardo Collado
Cristina Chinchilla Martínez
Alonso Gómez Torres

Publicación cuatrimestral
(3 números al año)

© 2016. Actualidad Médica

Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma.

Actualidad Médica, a los efectos previstos en el artículo 32.1 párrafo segundo del vigente TRLPI, se opone de forma expresa al uso parcial o total de las páginas de Actualidad Médica con el propósito de elaborar resúmenes de prensa con fines comerciales.

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley.

Comité rector

Prof. Antonio Campos Muñoz
Presidente de la Real Academia
de Medicina de Andalucía Oriental

Prof. Indalecio Sánchez-Montesinos García
Decano de la Facultad de Medicina
de la Universidad de Granada

Prof. Miguel Guirao Piñeyro
Presidente de la Asociación
de Antiguos Alumnos de la Facultad
de Medicina de la Universidad de Granada

M^a Elsa Gómez de Ferraris
Universidad Nacional de Córdoba,
Argentina

Antonio Rendas
Universidade Nova de Lisboa
Portugal

Andrés Castell
Universidad Nacional Autónoma de
México. México DF, México

Duarte Nuno Vieira
Universidade de Coimbra,
Coimbra, Portugal

Diseño y maquetación

ARP Producciones

Disponible en internet:
www.actualidadmedica.es
Atención al lector:
info@actualidadmedica.es
Actualidad Médica.
Avda. Madrid 11. 18012 Granada · España.

Protección de datos: Actualidad Médica declara cumplir lo dispuesto por la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

Papel ecológico libre de cloro. Esta publicación se imprime en papel no ácido.
This publication is printed in acid-free paper.

Impreso en España.

Depósito Legal: GR-14-1958

ISSN: 0365-7965

DOI: 10.15568/am

Alice Warley
King's College
Londres, Reino Unido

Sebastián San Martín
Universidad de Valparaíso
Valparaíso, Chile

Antonio Alcaraz Asensio
Hospital Clinic
Barcelona, España

Imprenta

Gráficas Alhambra

Revista editada por:



Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada



Facultad de Medicina,
Universidad de Granada



Asociación de Antiguos Alumnos
Facultad de Medicina de Granada

Con el patrocinio de:



FUNDACIÓN BENÉFICA ANTICÁNCER
San Francisco Javier y Santa Cándida
Gran Cruz de Beneficencia. Distintivo Blanco

- 65** **EDITORIAL**
Generación e implantación de piel artificial creada por ingeniería de tejidos fabricada en Granada: un modelo de medicina traslacional
Generation and clinical application of an artificial skin model created by tissue engineering in Granada: a model of translational medicine
- 66** **ORIGINAL**
Espectro clínico y genético de la muerte súbita cardíaca en el deporte
Clinical and genetic spectrum of sudden cardiac death in sport
David Antonio Rodríguez Fuentes et al
- 72**
Diferenciación epitelial in vitro de células mesenquimales troncales humanas (hCMTs) de tejido adiposo (TA) y médula ósea (MO): caracterización celular y estudio de expresión de HLA I y II
Epithelial in vitro differentiation of human mesenchymal stem cells (hMSCs) from adipose tissue (AT) and bone marrow (BM): cellular characterization and study of HLA I and II expression
Álvaro Sierra-Sánchez et al
- 79**
Listado de verificación quirúrgica: buscando la implicación de profesionales y pacientes
Surgical checklist: seeking the involvement of professionals and patients
Ascension Sanchez-Martinez et al
- 85**
Optimización del cultivo de queratinocitos humanos para el desarrollo de un modelo de piel artificial humana: alternativas celulares como capa alimentadora
Optimization of human keratinocyte culture to develop an artificial human skin model: cell alternatives as feeder layer of Advanced Therapies
Ana Fernández González et al
- 95**
La asistencia transfronteriza en terapias avanzadas: análisis sobre una nueva realidad en salud
Cross-border assistance in Advanced Therapies: analysis of a new reality in Health
Antonio Leopoldo Santisteban Espejo
- 101** **REVISIÓN**
Enfermedad de Tarui: revisión y perspectivas bioinformáticas
Tarui's disease: Review and bioinformatic perspectives
Jose Arturo Molina Mora et al
- 109** **CASO CLÍNICO**
Gastroduodenal involvement as an unusual presentation of crohn's disease
Afectación gastroduodenal como presentación inusual de la enfermedad de Crohn
Carlos San Miguel Ménde et al
- 112**
Síndrome de Lemierre, una complicación grave de la sinusitis aguda
Lemierre's syndrome, a serious complication of acute sinusitis
Ana Margarita Cantero Macedo et al
- 115**
Bilateral jaw fracture after long term treatment with bisphosphonates. A case report
Fractura bilateral de mandibular tras un tratamiento a largo plazo con bifosfonatos
Paolo Cariati et al
- 118** **DERECHO SANITARIO**
El consentimiento informado ¿Un riesgo para la información del paciente?
Consent form. A risk to patient information?
Manuel Pérez-Sarabia
- 123** **CONMEMORACIONES Y ANIVERSARIOS**
Antonio Rivera Ramos (1815-1887): una aproximación a la biografía socio-profesional de un miembro de la elite médica sevillana
Antonio Rivera Ramos (1815-1887): A professional approach to his biography
Juan L. Carrillo
- 130** **CARTAS AL EDITOR**
Análisis de la efectividad de la inmunoestimulación activa con extractos bacterianos en la prevención de las infecciones urinarias recurrentes
Analysis of effectiveness of bacterial extracts immunostimulation with bacterial extracts active in preventing urinary infections recurring
Antonio Jiménez-Pacheco
- 132**
Traumatismo acústico e hipoacusia súbita
Acoustic trauma and sudden deafness
María de Alharilla Montilla Ibáñez et al
- 136**
Amiloidosis cardíaca y macroglobulinemia de Waldenström
Cardiac amyloidosis and Waldenström macroglobulinemia
Isabel Sánchez-Berná et al
- 138**
Neumomediastino espontáneo en edad pediátrica
Spontaneous Pneumomediastinum in pediatric patient
María Sierra Girón Prieto et al
- 140** **AULAS EN ONCOLOGÍA**
Cáncer de vejiga
Bladder cancer
Miguel Ángel Arrabal Polo et al

Generación e implantación de piel artificial creada por ingeniería de tejidos fabricada en Granada: un modelo de medicina traslacional

Generation and clinical application of an artificial skin model created by tissue engineering in Granada: a model of translational medicine

El pasado uno de Junio se implantó por primera vez en el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla un nuevo tipo de piel creada por ingeniería de tejidos diseñada en la Facultad de Medicina de Granada y elaborada como medicamento tisular en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves perteneciente al Complejo Hospitalario Universitario de Granada. El implante ha logrado la supervivencia de una paciente de 29 años en situación crítica con el 70 por ciento de la superficie corporal quemada.

El conjunto de acciones que han tenido lugar para que pudiera llevarse a cabo este tratamiento innovador de terapia avanzada constituye un excelente ejemplo de la nueva medicina traslacional que va a caracterizar el ejercicio médico en las próximas décadas.

Cuatro han sido los equipos que han intervenido en dicho proceso y es precisamente la conjunción armónica de todos ellos la que ha generado el traslado y la aplicación a la clínica de los conocimientos básicos obtenidos en el laboratorio, esto es la que ha permitido el ejercicio de la medicina traslacional.

Los cuatro equipos son los siguientes: el equipo básico que ha diseñado el nuevo tejido, el equipo que lo ha convertido en producto farmacéutico, el equipo quirúrgico que lo ha implantado y el equipo que, en colaboración con las gerencias de ambos hospitales, ha coordinado todo el proceso.

El primer equipo, el grupo de investigación de ingeniería tisular del Departamento de Histología de la Universidad de Granada, diseñó un nuevo modelo de piel artificial a partir de células madre queratinocíticas y de fibroblastos procedentes de biopsias y de un novedoso biomaterial de fibrina y agarosa, esta última procedente de algas marinas. Durante más de diez años dicho grupo ha investigado las propiedades de este biomaterial y tras someterlo a un proceso de nanoestructuración lo ha aplicado a la construcción de distintos tejidos -cornea, mucosa oral, piel, etc.- y realizado numerosos ensayos preclínicos en animales de experimentación para lograr el biomaterial más biomimético posible con el tejido nativo al que se pretende sustituir.

El segundo equipo, el grupo de la Unidad de Producción Celular e Ingeniería tisular, del Complejo Hospitalario de Granada ha fabricado la piel mediante ingeniería de tejidos bajo los estándares

res europeos de fabricación de medicamentos de terapias avanzadas para lo cual ha necesitado de unas instalaciones especiales, las salas blancas o GMP en las cuales se ha preparado la piel artificial para su utilización en la clínica como agente terapéutico. Este equipo tiene experiencia en la fabricación de córnea artificial humana en condiciones GMP en el contexto de un ensayo clínico y elaborada en el mismo biomaterial. En este proceso ha sido fundamental el apoyo de la gerencia del Complejo Hospitalario al establecer como horizonte del mismo el convertir al centro en hospital de vanguardia para el desarrollo de terapias avanzadas.

El tercer equipo, la Unidad de Gestión Clínica de Cirugía Plástica y Grandes Quemados del Hospital Virgen del Rocío, ha implantado una nueva piel asumiendo los riesgos de toda innovación quirúrgica confirmando una voluntad de apertura a nuevas soluciones que no siempre resulta fácil de encontrar en los equipos clínicos.

El cuarto agente ha sido fundamental para la coordinación armónica de todos los anteriores. Se trata de la Iniciativa de Terapias Avanzadas de la Junta de Andalucía, un organismo que asume y estimula la investigación, fomenta la creación de salas GMP y las dota de personal, genera todo el protocolo de autorizaciones y requisitos necesarios para el desarrollo de este tipo de terapias y correlaciona los equipos generadores de estos nuevos productos farmacéuticos con los servicios clínicos en los que van a aplicarse.

La centenaria revista **Actualidad Médica** saluda este nueva forma de ejercicio médico y quiere resaltar como ejemplo del mismo el logro conseguido con el implante del nuevo modelo de piel artificial que supone una brillante continuación de lo ya logrado previamente, con la implantación de la primera cornea artificial, y que anticipa nuevos logros por venir. El hecho de que esta nueva forma de ejercicio médico traslacional, en lo que a las terapias avanzadas se refiere, tenga su origen en Granada, en su Facultad de Medicina y en sus Hospitales Universitarios, no hace más que poner de relieve que la tradición innovadora que la medicina ha tenido siempre en nuestra tierra, y de la que ha dado siempre cuenta **Actualidad Médica**, continua pujante al servicio del conocimiento y, sobre todo, de la sociedad a la que sirven todas las instituciones públicas y personas que han hecho posibles estos logros.

Espectro clínico y genético de la muerte súbita cardíaca en el deporte

Clinical and genetic spectrum of sudden cardiac death in sport

David Antonio Rodríguez Fuentes, Juan Jiménez-Jáimez

Servicio de Cardiología. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.

Resumen

Introducción: La muerte súbita cardíaca (MSC) en deportistas sucede generalmente tras una arritmia ventricular grave provocada por una enfermedad cardíaca hereditaria de base. Nuestro objetivo es describir el contexto clínico, el trasfondo genético y la penetrancia familiar de una serie de casos con MSC relacionados con el deporte.

Material y métodos: se incluyeron probandos afectados por MSC, reanimada o no, y atendidos en una Unidad especializada desde 2012 a 2016. Se les aplicó un protocolo diagnóstico amplio con pruebas clínicas complejas en los supervivientes y autopsia clínica en los fallecidos. En todos los casos se realizó estudio familiar y en la mayoría de ellos, genético con next generation sequencing.

Resultados: diez casos fueron estudiados y analizados de forma retrospectiva, todos varones y el 60 % fallecidos, con una edad media de 26,2 ±16,1 años. En el 50 % de los casos se había realizado un estudio clínico previo por la presencia de síntomas. Los deportes más prevalentes fueron el fútbol y la natación. En todos los casos excepto en uno se llegó finalmente al diagnóstico, siendo la miocardiopatía hipertrófica (3 casos) y la TVCP (3 casos) los diagnósticos más frecuentes, y el gen de la ryanodina el más frecuentemente mutado. De 31 familiares estudiados, 17 fueron diagnosticados de la patología del caso en concreto (54,8%). La probabilidad de identificar familiares afectados tendía a ser ligeramente mayor en caso de haber identificado una mutación causal en el probando.

Conclusiones: La MSC asociada al deporte en nuestro medio muestra una baja incidencia y está causada por enfermedades cardíacas hereditarias, siendo las más frecuentes la MH y la TVCP. La presencia de síntomas previos fue frecuente y los deportes más relacionados fueron el fútbol y la natación. El test genético fue de utilidad para la identificación de casos entre los familiares, en los que se observó una alta penetrancia.

Abstract

Objective: Sudden cardiac death (SCD) in athletes usually occurs due to a ventricular arrhythmia caused by an hereditary heart disease. Our goal is to describe the clinical context, the genetic background and the familial penetrance of a case serie with SCD related to sport.

Material and methods: Probandns affected by SCD, reanimated or not, and studied in a specialized clinic from 2012-2016 were included. A comprehensive diagnostic protocol was applied with clinical tests in survivors and clinical autopsy on the deceased. In all the cases a familial study was performed, and in most of them, including genetic testing.

Results: Ten cases were retrospectively studied, all were male and 60% dead, with an average age of 26,2 ± 16,1 years. In 50% of cases it had been made a previous clinical study due to the presence of symptoms. The most prevalent sports were football and swimming. Final diagnosis was reached in 9 cases, with hypertrophic cardiomyopathy (3 cases) and Cathecolaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia (3 cases) being the most commom underlying diseases. Ryanodine 2 was the the most frequently mutated gene. Thirty one family members were studied, of which 17 were diagnosed with the pathology (54,8%). The probability of identifying affected family members tended to be slightly higher if there was a causal mutation identified in the proband.

Conclusion: SCD related to sports in our population is mainly caused by hereditary heart diseases, being the most frequent hypertrophic cardiomyopathy and Cathecolaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. The presence of previous symptoms was common, and football and swimming were the most prevalent sports practiced by SCD probands. Genetic testing was useful for identifying cases among family members, in whom a high clinical penetrance was observed.

Palabras clave: muerte súbita cardíaca, genética, deporte, miocardiopatías, canalopatías.

Keywords: sudden cardiac death, genetics, sport, cardiomyopathies, channelopathies.

INTRODUCCIÓN

Se define la muerte súbita cardíaca (MSC) como la muerte inesperada, que ocurre generalmente en menos de una hora desde el comienzo de los síntomas en los casos que son presenciados por testigos, o en el caso de no haber testigos, en 24 horas desde la última vez que fue presenciado vivo (1). En general la MSC se debe a una arritmia fatal como la fibrilación ventricular (2). La MSC en atletas es la principal causa de muerte en este subgrupo poblacional, incluidos tanto adolescentes, estudiantes universitarios como profesionales del deporte. La MSC en atletas es un acontecimiento muy infrecuente con una estimación aproximada que va desde el rango de 1 cada 50.000 a 200.000 personas-año, (3) siendo las cardiopatías familiares de base genética la causa más común en menores de 35 años. Entre dichas cardiopatías familiares se encuentran los trastornos primarios del músculo cardíaco o miocardiopatías, y los trastornos eléctricos primarios o canalopatías (4,5). Estas entidades tienen como rasgos en común la base genética, la heredabilidad en la familia generalmente con patrón autosómico dominante y la predisposición a arritmias letales (6-10). Actualmente la identificación de las anomalías cardíacas subyacentes asintomáticas constituye un gran reto para la prevención primaria de la muerte súbita y estratificación de riesgo, y la detección de posibles casos ocultos en familiares.

El papel causal que juega el deporte en los casos de MSC es controvertido. Existen estudios que sugieren que el riesgo de sufrir un evento de MSC aumenta conforme lo hace el nivel competitivo hasta en 2.5 veces (11,12). En amplias series poblacionales, la MSC asociada al deporte es más frecuente en varones, con una edad media de presentación de 23 años y superior en la raza afroamericana respecto a la caucásica. En nuestro país, los deportes que más se asocian a eventos arritmicos son el fútbol y ciclismo (13). Sin embargo, las series son limitadas y unicéntricas y en nuestro entorno más cercano carecemos de información acerca del sustrato clínico y genético de nuestra población joven con MSC ocurrida durante la realización de deporte.

Nuestro objetivo es describir el contexto clínico, el trasfondo genético y la penetrancia familiar de una serie de casos con MSC relacionados con el deporte.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante un período de 4 años (años 2012-2016) se reclutaron casos de MSC no isquémica con edad inferior a 65 años ocurridos en la provincia de Granada durante la práctica deportiva, profesional o amateur. El criterio de inclusión fue el haber padecido una parada cardíaca, documentada o no en el electrocardiograma (ECG), y que precisase desfibrilación externa para restaurar ritmo sinusal en los casos supervivientes. En el caso de los sujetos fallecidos, que la muerte ocurriese en la primera hora tras el inicio de los síntomas, o antes de 24 horas desde la última vez que se constató que el sujeto estaba con vida, en ausencia de causa extracardiaca evidente. Los casos supervivientes procedían de planta de hospitalización de cardiología/Unidad de Arritmias y los fallecidos del Instituto de Medicina Legal de Granada. Entre los criterios de exclusión figuró el origen isquémico del evento, la causa secundaria de MSC y la negativa a participar en el registro del probando/familia. El diseño del estudio fue longitudinal y la mayoría de los sujetos fueron reclutados de forma retrospectiva. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético Local, y todos los sujetos y/o familiares participantes firmaron un consentimiento informado para participar.

El protocolo diagnóstico aplicado a cada caso está resumido en la figura 1 (14). En el caso del sujeto superviviente, la batería de pruebas era más amplia y centrada en el caso índice. Aparte de una rigurosa anamnesis para identificación de factores desencadenantes, deporte y nivel del mismo, toma de fármacos, fiebre o eventos previos, en un primer escalón se realizaban estudios convencionales como ECG, ecocardiograma transtorácico, coronariografía +/- test de vasospasmo y técnicas de imagen avanzada como la resonancia magnética. Si no se hallaba el diagnóstico de

cardiopatía estructural o canalopatía cierta, se aplicó el protocolo secuencial descrito por nuestro grupo en el estudio FIVI-Gen,(14) para desenmascarar el fenotipo de una canalopatía oculta. Brevemente, se practicaban inicialmente tests farmacológicos de epinefrina y flecainida junto a ergometría, seguido de estudio a familiares de primer grado con ECG y/o ecocardiograma, y si todo resultaba negativo, se estudiaba genéticamente mediante *next generation sequencing* (NGS) al caso índice, con un panel que incluía hasta 242 genes relacionados o potencialmente implicados con miocardiopatías y canalopatías (figura 2).

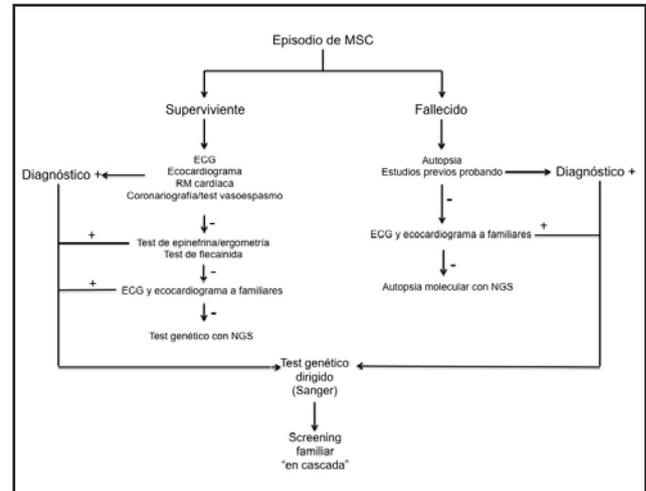


Figura 1: Algoritmo diagnóstico en casos de deportistas fallecidos o supervivientes a un evento de MSC.

<p>ABCC9, ACE, ACE2, ACTA2, ACTC1, ACTN2, ACVRL1, ADAMTSL4, ADD1, ADRA1A, ADRA2A, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGL, AGT, AGTR1, AGTR2, AKAP9, ALMS1, ANK2, ANK3, ANKRD1, APOB, APOE, ASPH, ATP2A2, BAG3, BDKRB2, BMP10, BMPR1B, BMPR2, BRAF, CACNA1B, CACNA1C, CACNA1D, CACNA2D1, CACNB2, CALM1, CALM2, CALR3, CAMK2D, CAPN3, CASQ2, CAV1, CAV3, CBS, CFTR, CHST14, CLIC2, CMA1, CMYA5, CNBP, COG2, COL10A1, COL1A1, COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL5A1, COL5A2, CORIN, CRYAB, CSRP3, CTF1, CXADR, CYP11B2, DES, DMD, DMPK, DOLK, DPP6, DSC2, DSG2, DSP, DTNA, ELN, EMD, ENG, ERF, ESR2, EYA1, EYA4, FBN1, FBN2, FHL1, FHL2, FHOD3, FKBP1A, FKBP1B, FKRP, FKTN, FLNA, FLNC, FXN, GAA, GADD45B, GATA4, GHSR, GJA1, GJA5, GLA, GNAQ, GNB3, GPD1L, HCN1, HCN4, HFE, HRAS, IGF1R, IL6, JAG1, JPH2, JUP, KCNA5, KCND3, KCNE1, KCNE1L, KCNE2, KCNE3, KCNE4, KCNH2, KCNJ11, KCNJ12, KCNJ2, KCNJ3, KCNJ5, KCNJ8, KCNK3, KCNQ1, KCNQ2, KLF10, KRAS, LAMA2, LAMA4, LAMP2, LDB3, LDLR, LMNA, LRP6, MAP2K1, MAP2K2, MEF2A, MIB1, MSTN, MURC, MYBPC3, MYH11, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, MYLK2, MYOCD, MYOT, MYOZ2, MYPN, NBR1, NEBL, NEXN, NKOX2-5, NOS1AP, NOS3, NOTCH1, NPPA, NRAS, OBSL1, PCSK9, PDLIM3, PITX2, PKP2, PKP4, PLEC, PLN, PLOD1, PNN, PPARB, PPARC1A, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, PTPN11, RAF1, RANGRF, RBM20, RBX1, REN, RYR2, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SCN5B, SCN11G, SFTPC, SGGD, SHOC2, SKI, SLC25A4, SLC2A10, SLC39A13, SMAD1, SMAD3, SMAD4, SMAD9, SNTA1, SOST, SQSTM1, SRF, SRY, TAZ, TBX20, TBX5, TCAP, TERC, TERT, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TGFB3, TKT, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNT3, TNNT2, TNXB, TPM1, TRDN, TRIM55, TRIM63, TRPM4, TTN, TTR, VCL.</p>

Figura 2: Panel de genes estudiados con la tecnología NGS.

Para el caso del sujeto fallecido, se tomaron datos clínicos igualmente sobre las circunstancias de la muerte y su relación con el tipo de deporte practicado, ritmo de la parada cardíaca, eventos y enfermedades previas y estudios cardiológicos previos, con especial énfasis en la existencia de ECGs previos. La necropsia se realizó por el Instituto de Medicina Legal de Granada en todos los casos prospectivos, y no en todos los retrospectivos, siguiendo las guías y recomendaciones (15). En resumen, se realizaba un examen macroscópico del corazón, registrando el peso, tamaño y grosor de cavidades, origen, trayecto y luz de arterias coronarias, presencia de trombosis coronaria o datos de isquemia miocárdica aguda, anatomía valvular, y descripción macro y microscópica del miocardio. Se realizó estudio bioquímico, toxicológico e histológico en todos los casos disponibles, y en aquellos casos sin diagnóstico cierto, o con diagnóstico familiar cierto pero a juicio del investigador, se realizó autopsia molecular mediante NGS (figura 2), o bien se secuenció un familiar directo con evidencia de la enfermedad si no había ADN disponible del fallecido.

El estudio familiar se realizó en cascada en todos los casos en que se llegó a un diagnóstico clínico o genético, incluyendo al menos a los familiares de primer grado, y extendiendo el mismo el máximo posible en cada caso. En los casos sin diagnóstico se realizó igualmente estudio familiar.

Estudio genético mediante NGS

El ADN se obtuvo de muestras de sangre periférica almacenada con EDTA. Una serie de 242 genes previamente asociados con miocardiopatías y canalopatías se secuenció utilizando la plataforma NGS Illumina® 1500 HiSeq. Se obtuvo la secuencia de todas las regiones exónicas codificantes e intrónicas flanqueantes. La patogenicidad de las variantes detectadas fue catalogada en base a la descripción previa de la variante, la predicción *in silico* de patogenicidad por las herramientas bioinformáticas (Polyphen, SIFT, MutationTaster), el grado de conservación del residuo a través de las especies y su presencia de bases de datos públicas de la población general como dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) y la NHLBI GO Exome Sequencing Project database (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>). Finalmente, para considerar una mutación como probablemente patogénica se requirió una coherencia y cosegregación familiar con el fenotipo.

RESULTADOS

Se incluyeron 10 casos índice con MSC ocurrida durante la realización de deporte, todos ellos varones y el 60 % de ellos fallecidos durante el episodio. La edad media de los casos fue de 26,2 ± 16,1 años (rango 7-57). En el 50 % de los casos se había realizado un estudio clínico previo por la presencia de síntomas como dolor precordial, síncope (1 caso) o anomalías en el ECG. El ritmo registrado como FV tan sólo se obtuvo en 2 de los casos, siendo el resto asistolia o desconocido. Los deportes más prevalentes fueron el fútbol y la natación. La tabla 1 muestra las características diferenciales de ambos grupos.

	Supervivientes (n=4)	Fallecidos (n=6)
Edad	28 ± 15,8	25 ± 17,7
Sexo varón (%)	4 (100)	6 (100)
Estudio clínico previo (%)	2 (50)	3 (50)
Ritmo PCR (%)		
Fibrilación ventricular	2 (50)	0 (0)
Asistolia	0	2 (33,3)
No registrado	2 (50)	4 (66,6)
Síncope previo (%)	1 (25)	0 (0)
Deporte		
Fútbol	1 (25)	2 (33,3)
Natación	2(50)	2 (33,3)
Gimnasia/Atletismo	1 (25)	1 (16,6)
Senderismo	0 (0)	1 (16,6)
Diagnóstico final		
Miocardiopatía hipertrófica	0 (0)	3 (50)
Taquicardia ventricular catecolaminérgica	1 (25)	2 (33,3)
Displasia arritmogénica de VD	1 (25)	0 (0)
Miocardiopatía dilatada	0 (0)	1 (16,6)
Síndrome de Brugada	1 (25)	0 (0)
Fibrilación ventricular idiomórfica	1 (25)	0 (0)

Tabla 1. Características clínicas basales en ambos grupos (PCR: parada cardiorrespiratoria; VD: ventrículo derecho).

En todos los casos excepto en uno se llegó finalmente al diagnóstico, siendo la miocardiopatía hipertrófica (3 casos) y la TVCP (3 casos) los diagnósticos más frecuentes. Hubo una ligera tendencia no significativa a mayor prevalencia de miocardiopatías entre los fallecidos respecto a los supervivientes (tabla 1). El diagnóstico final, se realizó bien a través de la autopsia en un 30% de casos, mediante el estudio familiar en un 30%, el ECG un 10%, y el test genético un 20%. Si lo separamos por grupos, los fallecidos en un 33,3% se realizó a través de la autopsia, un 50% mediante el estudio familiar y un caso mediante autopsia molecular. En los supervivientes, un caso mediante test genético, un caso mediante el ECG y otro caso mediante el ecocardiograma. En 7 de los casos se practicó estudio genético apoyado en los datos clínicos, siendo positivo en el 5. La figura 3 muestra de forma resumida los hallazgos clínicos y genéticos de la serie, y la tabla 2 muestra datos clínicos y genéticos de probando y familiares de todos los casos diagnosticados genéticamente.

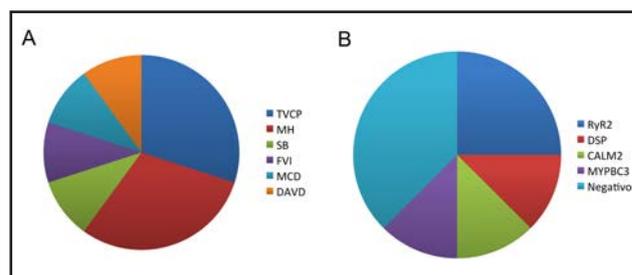


Figura 3. Panel A. Espectro de enfermedades diagnosticadas. Panel B. Resultados del test genético.

Respecto al estudio familiar, se analizaron un total de 31 familiares, una media de 3,1 familiares por caso. De todos los familiares estudiados, 17 fueron diagnosticados de la patología del caso en concreto (54,8%). En un 30% de los casos ningún familiar estudiado fue diagnosticado con respecto al caso índice. Si relacionamos entidad clínica con penetrancia familiar, la mayor incidencia de familiares diagnosticados la encontramos en la miocardiopatía hipertrófica (MH) con 7 casos diagnosticados sobre un total de 10 estudiados (70% penetrancia familiar); en segundo lugar la taquicardia ventricular catecolaminérgica polimórfica (TVCP) con 5 casos diagnosticados sobre un total de 6 estudiados (83,3% penetrancia), y en tercer lugar la displasia arritmogénica de ventrículo derecho (DAVD) con 3 diagnosticados de 4 estudiados (75% penetrancia). Si dividimos a los familiares en dos grupos respecto de si el probando resultó fallecido o superviviente, 11 de 19 familiares estudiados fueron diagnosticados (57,8%) en el grupo de fallecidos. Por el contrario en lo que se refiere a los supervivientes, 6 diagnosticados de 12 estudiados (50%). La probabilidad de identificar familiares afectados tendía a ser ligeramente mayor en caso de haber identificado una mutación causal en el probando (figura 4).

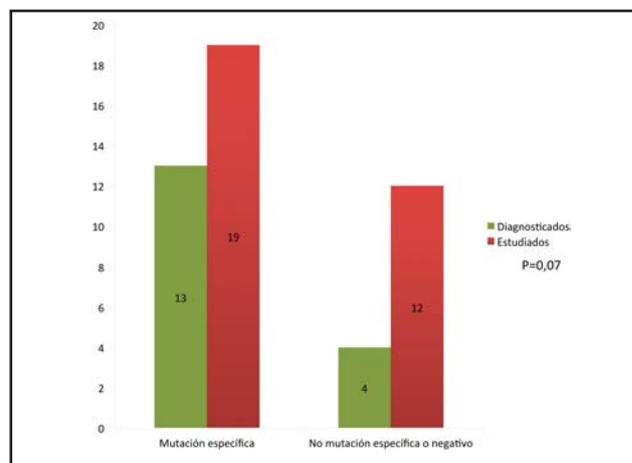


Figura 4. Papel del test genético en la identificación de familiares afectados.

Edad/Sexo probando	Grupo de estudio	Fenotipo	Gen	Mutación	Familiares estudiados	Familiares portadores
33/M	Superviviente	Displasia Arritmogénica de VD	DSP	R1045*	4	3
57/M	Fallecido	Miocardiopatía hipertrófica	MYBCP3	R694H	7	4
16/M	Superviviente	Taquicardia Ventricular Catecolaminérgica	RYR2	K337N	2	2
7/M	Fallecido	Muerte Súbita-Probable TVCP	CALM2	N98S	3	0
16/M	Fallecido	Taquicardia Ventricular Catecolaminérgica	RyR2	L488I	4	3

Tabla 2. Descripción clínica de los casos con mutación patogénica (VD: ventrículo derecho; TVCP: taquicardia ventricular catecolaminérgica).

DISCUSIÓN

La MSC asociada a los deportistas de competición es conocida desde la antigüedad, con la primera descripción tras la carrera épica del guerrero Filípides en la I Guerra Médica. Desde entonces, son numerosas las referencias en la literatura a este dramático y paradójico evento clínico. Ello ha motivado consenso de expertos y recomendaciones para evitar el deporte de competición en aquellos sujetos diagnosticados de alguna cardiopatía predisponente (16), algo en lo que la comunidad científica está prácticamente de acuerdo. El riesgo de sufrir una MSC parece mayor, ligeramente, en deportistas de alto nivel, por lo que es prudente restringir la actividad física competitiva (11). La etiología del trastorno de base en deportistas varía de unas poblaciones a otras, pero se estima que en nuestro ámbito las enfermedades más frecuentes son la MH, la DAVD y las canalopatías como el Síndrome de QT largo y la TVCP. Nuestra serie es concordante con datos previos de la literatura con alta incidencia de MH y TVCP (17-18), siendo los deportes más frecuentemente relacionados el fútbol y la natación. Sin embargo, de acuerdo a otros trabajos recientes, muchas de las MSC en deportistas ocurren en reposo. Ello cuestiona la restricción del deporte de competición como sola medida para la prevención de la MSC, y hace necesario individualizar el manejo en cada paciente para instaurar un tratamiento preventivo adecuado, desde los fármacos hasta el desfibrilador automático implantable (17).

Otra cuestión diferente radica en la conveniencia de realizar screening cardiológico antes de ser admitidos para el deporte de alto nivel en sujetos aparentemente sanos. Existe debate en torno a esta idea, con una actitud más activa en ciertas regiones como Europa, y en particular Italia e Israel, respecto a América. Esta recomendación se apoya en datos consistentes de un grupo italiano que demostró una reducción significativa de la incidencia de casos de MSC tras la implementación de un riguroso screening, incluyendo ECG, previo a la práctica deportiva de competición (19). Sin embargo, estudios posteriores no consiguieron replicar estos datos y se muestran contrarios a los beneficios postulados del screening con ECG (20-22). Teniendo en cuenta las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud sobre la idoneidad de una patología para hacer screening, la MSC no cumple los requisitos para hacer un correcto cribado, por su baja tasa de incidencia en la población general. En dicho documento, el consejo para realizar un screening pasa por que la enfermedad en cuestión suponga un problema de salud global, como lo son por ejemplo el cáncer de mama, de pulmón o la enfermedad cardiovascular, con una tasa de mortalidad muy elevada por año. La incidencia de la MSC varía de unas poblaciones a otras, pero está entre los 0,87 por 100.000 habitantes-año en la región de Veneto (Italia) (19), y los 1,86 por 100.000 habitantes-año en un estudio reciente americano (11). La incidencia calculada en nuestra serie es menor, en torno a 0,27 por 1000.000 personas y año para la provincia de Granada, pero teniendo en cuenta que se trata de un estudio retrospectivo con probables casos perdidos/no comunicados. Esta baja incidencia hace poco viable desde el punto de vista económico el screening de los deportistas, pues el número

de casos a estudiar para evitar un posible caso de MSC es muy elevado. Además, la sensibilidad y especificidad del screening con ECG es limitada, dado que muchas de las patologías que ocasionan MSC muestran un fenotipo leve o poco aparente (23). Para aumentar la sensibilidad se debería completar el estudio con ecocardiograma y prueba de esfuerzo, algo que es inviable en el Sistema Sanitario Público, con el riesgo de diagnosticar falsos positivos si la interpretación no se realiza por personal experimentado.

Existen medidas más prácticas para la prevención de la MSC. De acuerdo a nuestra serie, la mitad de los casos habían presentado algún síntoma previo como síncope, dolor torácico o anomalías en el ECG. Este dato es similar a lo observado previamente en series más amplias (24). Es esencial la concienciación de los deportistas para consultar ante la aparición de estos síntomas, y los médicos responsables de los equipos profesionales deben derivar a cardiólogos experimentados en el manejo de estas enfermedades para ampliar el estudio ante la sospecha de patología. La figura 5 muestra un caso de nuestra serie, futbolista profesional, con episodios de dolor torácico repetidos que motivaron un estudio con ECG y ecocardiograma, sin mostrar datos claros de miocardiopatía en ese momento, pero sí en la autopsia especializada tras el episodio de MSC. Otra medida a adoptar para reducir la incidencia de MSC es la disponibilidad de desfibriladores externos automáticos en áreas estratégicas, y una formación continuada a la población sobre técnicas básicas de reanimación cardiopulmonar, se han mostrado como acciones preventivas eficaces en otras poblaciones (25,26).

Nuestro trabajo aporta evidencia sobre la alta incidencia de casos entre los familiares, una vez que ocurre un caso de MSC en la familia. Además el test genético fue de utilidad para la identificación de dichos casos ocultos y, por consiguiente, para el establecimiento de las medidas preventivas oportunas. Además, el test genético permitió descartar la enfermedad y por tanto la necesidad de seguimiento, en un número elevado de familiares. La mayoría de las mutaciones no estaban descritas previamente, por lo que no se pueden inferir datos pronósticos de las mismas. Los genes mutados son similares a los descritos para otras poblaciones, con especial prevalencia de genes que causan MSC en ausencia de cardiopatía estructural, por lo que en el sujeto fallecido sólo se puede diagnosticar mediante la denominada autopsia molecular o estudio genético post-mortem, como ocurrió en uno de nuestros casos. En el caso de la autopsia molecular clásicamente se ha recomendado la secuenciación de pocos genes como KCNQ1, KCNH2, SCN5A y RyR2 (27,28). En el caso de sujetos supervivientes a parada cardíaca en ausencia de fenotipo este estudio está incluso desaconsejado por las guías de práctica clínica (29). Un estudio previo de nuestro grupo sugirió que el uso de la nueva tecnología NGS aplicada a sujetos supervivientes a paro cardíaco en ausencia de fenotipo podría aumentar la rentabilidad diagnóstica (14). En el presente trabajo aportamos evidencia, además, de que dicho test genético realizado mediante NGS en sujetos tanto supervivientes como fallecidos (autopsia molecular) permite identificar casos de mutaciones patogénicas en genes poco habituales y no incluidos previamente como CALM, y que

permiten el diagnóstico familiar en cascada con la instauración de tratamientos de forma precoz. La tecnología NGS supone una oportunidad en el ámbito de la MSC por su potencial diagnóstico para las miocardiopatías y canalopatías (30). Dada su capacidad para simplificar el análisis de numerosos genes aumentando la sensibilidad respecto a la tecnología Sanger, el reto es la correcta interpretación de los hallazgos para no perder especificidad, para lo cual es crucial un estudio de co-segregación amplio como el llevado a cabo en nuestra serie.

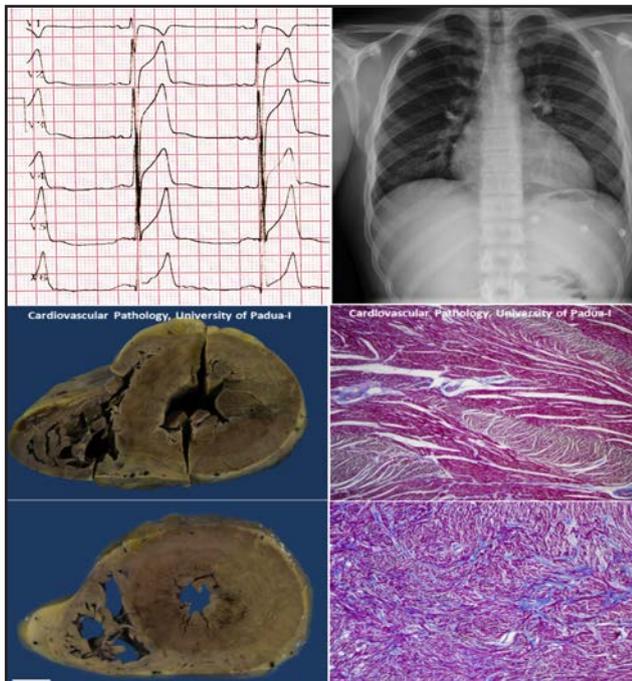


Figura 5: Futbolista de 18 años con MSC. Presentó previamente episodios de dolor precordial de esfuerzo. En los paneles superiores se muestran pruebas clínicas con hallazgo de hipertrofia ventricular izquierda en el ECG y cardiomegalia en la radiografía de tórax. En los paneles inferiores, hallazgos macro y microscópicos compatibles con el diagnóstico de miocardiopatía hipertrófica, con fibrosis y gran cantidad de disarray (panel inferior de la derecha). Imágenes cedidas gentilmente por cortesía de la Dra. Cristina Basso, de la Universidad de Padua (Italia).

CONCLUSIONES

La MSC asociada al deporte en nuestro medio muestra una baja incidencia y está causada por enfermedades cardíacas hereditarias, siendo las más frecuentes la MH y la TVCP. La presencia de síntomas previos fue frecuente y los deportes más relacionados fueron el fútbol y la natación. El test genético fue de utilidad para la identificación de casos entre los familiares, en los que se observó una alta penetrancia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mitrani RD, Myerburg RJ. Ten advances defining sudden cardiac death. *Trends Cardiovasc Med* 2016;26:23-33.
- Huikuri HV, Castellanos A, Myerburg RJ. Sudden death due to cardiac arrhythmias. *N Engl J Med* 2001;345:1473-82.
- Myerburg RJ, Interian A Jr, Mitrani RM, Kessler KM, Castellanos A. Frequency of sudden cardiac death and profiles of risk. *Am J Cardiol* 1997;80:10F-19F.
- Hookana E, Junttila MJ, Puurunen VP, Tikkanen JT, Kaikkonen KS, Kortelainen ML, et al. Causes of nonischemic sudden

cardiac death in the current era. *Heart Rhythm* 2011;8:1570-5.

- Bezzina CR, Lahrouchi N, Priori SG. Genetics of sudden cardiac death. *Circ Res* 2015;116:1919-36.
- Óscar Campuzano, Georgia Sarquella-Brugada, Ramón Brugada, Pedro Brugada, Josep Brugada. Bases genéticas de las arritmias malignas y las miocardiopatías. *Rev Esp Cardiol* 2009;62:422-36.
- Steinberger J, Lucas R, Edwards JE and Titus JL. Causes of sudden unexpected cardiac death in the first two decades of life. *Am J Cardiol* 1996; 77: 992-995.
- Virmani R, Burke AP, Farb A and Kark JA. Causes of sudden death in young and middle-aged competitive athletes. *Cardiol Clin* 1997; 15: 439-466.
- Behr ER, Casey A, Sheppard M, Wright M, Bowker TJ, Davies MJ, et al. Sudden arrhythmic death syndrome: a national survey of sudden unexplained cardiac death. *Heart* 2007;93:601e5.
- Fabre A, Sheppard MN. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart* 2006;92:316e20.
- Harmon KG, Asif IM, Maleszewski JJ, Owens DS, Prutkin JM, Salerno JC et al. Incidence, Cause, and Comparative Frequency of Sudden Cardiac Death in National Collegiate Athletic Association Athletes: A Decade in Review. *Circulation* 2015;132:10-9.
- Burke AP, Farb A, Virmani R Goodin J, Smialek JE. Sports-related and non-sports related sudden death in young adults. *Am Heart J* 1991;121:568-575.
- Suárez-Mier MP, Aguilera B, Mosquera RM, Sánchez-de-León MS. Pathology of sudden death during recreational sports in Spain. *Forensic Sci Int* 2013;226:188-96.
- Jiménez-Jáimez J, Peinado R, Grima EZ, Segura F, Morriña P, Sánchez Muñoz JJ, et al. Diagnostic Approach to Unexplained Cardiac Arrest (from the FIVI-Gen Study). *Am J Cardiol* 2015. 116:894-9.
- Basso C, Burke M, Fornes P, Gallagher PJ, De Gouveia RH, Sheppard M et al. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. *Pathologica* 2010;102:391-404.
- Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, Blom N, Borggrefe M, Camm J et al. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2015;36:2793-867.
- Finocchiaro G, Papadakis M, Robertus JL, Dhutia H, Steriotis AK, Tome M et al. Etiology of Sudden Death in Sports: Insights From a United Kingdom Regional Registry. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:2108-15.
- Corrado D, Basso C, Rizzoli G, Schiavon M, Thiene G. Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults? *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:1959-63.
- Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program. *JAMA*. 2006;296:1593-601.
- Steinvil A, Chundadze T, Zeltser D, Rogowski O, Halkin A, Galily Y, et al. Mandatory electrocardiographic screening of athletes to reduce their risk for sudden death proven fact or wishful thinking? *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1291-1296.

21. Risgaard B, Winkel BG, Jabbari R, Glinge C, Ingemann-Hansen O, Thomsen JL, et al. Sports-related sudden cardiac death in a competitive and a noncompetitive athlete population aged 12 to 49 years: data from an unselected nationwide study in Denmark. *Heart Rhythm* 2014;11:1673–1681.
22. Holst AG, Winkel BG, Theilade J, Kristensen IB, Thomsen JL, Ottesen GL, et al. Incidence and etiology of sports-related sudden cardiac death in Denmark—implications for preparticipation screening. *Heart Rhythm* 2010;7:1365–1371.
23. Jiménez-Jáimez J, Alvarez M, Algarra M, Macías-Ruiz R, Peñas R, Valverde F, et al. Low clinical penetrance in causal mutation carriers for cardiac channelopathies. *Rev Esp Cardiol*. 2013;66:275–81
24. Eloi Marijon, Audrey Uy-Evanado, Florence Dumas, Nicole Karam, Kyndaron Reinier, Carmen Teodorescu, et al. Warning Symptoms Are Associated With Survival From Sudden Cardiac Arrest. *Annals of Internal Medicine* 2015; DOI: 10.7326/M14-2342
25. Hansen CM, Wissenberg M, Weeke P, Ruwald MH, Lamberts M, Lippert F, et al. Automated external defibrillators inaccessible to more than half of nearby cardiac arrests in public locations during evening, nighttime and weekends. *Circulation* 2013;128: 2224–2231.
26. Wissenberg M, Lippert FK, Folke F, P Weeke, CM Hansen, Christensen EF, et al. Association of national initiatives to improve cardiac arrest management with rates of bystander intervention and patient survival after out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA* 2013;310:1377–1384.
27. Tester DJ, Ackerman MJ. Postmortem long QT syndrome genetic testing for sudden unexplained death in the young. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:240-6.
28. Tester DJ, Ackerman MJ. The role of molecular autopsy in unexplained sudden cardiac death. *Curr Opin Cardiol* 2006;21:166-172.
29. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm* 2011;8:1308-39
30. Monserrat L, Ortiz-Genga M, Lesende I, Garcia-Giustiniani D, Barriales-Villa R, de Una-Iglesias D et al. Genetics of cardiomyopathies: novel perspectives with next generation sequencing. *Curr Pharm Des*. 2015;21:418-30.

Diferenciación epitelial *in vitro* de células mesenquimales troncales humanas (hCMTs) de tejido adiposo (TA) y médula ósea (MO): caracterización celular y estudio de expresión de HLA I y II

Epithelial *in vitro* differentiation of human mesenchymal stem cells (hMSCs) from adipose tissue (AT) and bone marrow (BM): cellular characterization and study of HLA I and II expression

Álvaro Sierra-Sánchez^{1,2}, Antonio Ruiz-García^{1,2,3}, Jorge Guerrero Calvo^{1,2,3}, Natividad Fernández Porcel^{1,2,3}, Olga Espinosa Ibáñez^{2,3}, Antonio Manuel Lizana Moreno^{2,3}, Ana Fernandez Gonzalez^{2,3}, José Aneiros-Fernández⁴, Salvador Arias-Santiago^{2,3}

¹ECAI Unidad de Calidad de la Unidad Producción Celular e Ingeniería Tisular. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs. GRANADA. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada, Spain

²Unidad Producción Celular e Ingeniería Tisular. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada, Spain.

³Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzada.

⁴Unidad de Gestión Clínica de Anatomía Patológica. Complejo Hospitalaria de Granada. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA.

Resumen

Introducción: Las células troncales mesenquimales derivadas de tejido adiposo o médula ósea constituyen uno de los tratamientos de terapia celular más utilizados en los ensayos clínicos actuales por su capacidad inmunomoduladora. Además, por su potencial de diferenciación a células epiteliales pueden ser utilizadas en ingeniería tisular incorporadas a tejidos artificiales como la piel o córnea, sustituyendo a las células epiteliales autólogas de estos tejidos. Es necesario realizar una correcta caracterización de estas células diferenciadas y estudiar el efecto de la diferenciación en la expresión del HLA de clase I y II.

Objetivos: Caracterizar y realizar los controles de calidad GMP en dos líneas de células mesenquimales troncales humanas de distintos orígenes (tejido adiposo y médula ósea) tras diferenciarlas a células epiteliales *in vitro*, y analizar si se modifica la expresión de los marcadores HLA I y II antes y después del proceso diferenciador.

Metodología: Se ha realizado el aislamiento y expansión de las dos líneas celulares de células mesenquimales troncales a partir del tejido fuente y se ha procedido a su diferenciación *in vitro* a células epiteliales mediante medios de cultivos suplementados con factores de crecimiento específico. Se han realizado controles de calidad siguiendo los requerimientos de las normas de correcta fabricación y se ha estudiado por citometría de flujo la expresión de HLA tipo I y II antes y después del proceso diferenciador. Finalmente se ha comprobado mediante estudio histológico e inmunohistoquímico las características de las células diferenciadas.

Resultados: Se han aislado dos líneas de células mesenquimales troncales de tejido adiposo y médula ósea que cumplen los controles de calidad propuestos. Tras el proceso diferenciador *in vitro*, las células mesenquimales troncales humanas no expresan marcadores HLA (I y II) importantes en la respuesta inmune, pero sí expresan débilmente proteínas relacionadas con los principales estratos epiteliales (CK5, CK6 y CK14).

Conclusión: La ausencia de expresión de marcadores de HLA I y II por citometría de flujo en las células diferenciadas favorecería su uso con carácter alogénico en la construcción de piel y córneas humanas por ingeniería de tejidos, sin embargo, son necesarios más estudios que confirmen estos resultados preliminares y protocolos que optimicen el proceso diferenciador *in vitro* de las células mesenquimales troncales.

Palabras clave: Células Mesenquimales Troncales Humanas, Diferenciación Celular, Antígenos HLA, Citometría de Flujo, Caracterización Celular.

Abstract

Background: Human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and bone marrow are one of the most common cell therapy procedures used in recent clinical trials due to their immunomodulation capacity. Furthermore, for their epithelial differentiation potential can be used in tissue engineering, incorporated in artificial tissues such as skin and cornea, replacing autologous epithelial cells. It is necessary to make a correct cellular characterization of differentiated cells and to study the effect in HLA I and II expression.

Objetivos: Characterization and quality controls under GMP conditions of *in vitro* differentiated human mesenchymal stem cells from different sources (adipose tissue and bone marrow) to epithelial lineage, and study of HLA I and II expression before and after differentiation.

Methods: Isolation and expansion of two human mesenchymal stem cells lines from their tissues of origin and *in vitro* differentiation to epithelial cells using culture mediums supplemented with specific growth factors. Quality controls according Good Manufacturing Practices have been made and HLA I and II expression before and after differentiation have been studied. Finally, characteristics of differentiated cells have been demonstrated by histological and immunohistochemical analysis.

Results: Two human mesenchymal stem cells lines from adipose tissue and bone marrow have been isolated complying with the proposed quality controls. After *in vitro* differentiation, human mesenchymal stem cells do not express HLA (I and II) markers, which are important in immune response, but weakly express proteins related to main epithelial layers of human skin (CK5, CK6 and CK14).

Conclusion: The absence of expression of HLA I and II by flow cytometry in differentiated cells would promote the use of them with allogenic character to construct human skin and cornea by tissue engineering, however, more studies and protocols are required to confirm these preliminary results and to optimize *in vitro* differentiation of human mesenchymal stem cells.

Keywords: Regenerative Biomedicine, Human Mesenchymal Stem Cells, Cell Differentiation, HLA Antigens, Cellular Characterization.

INTRODUCCIÓN

La biomedicina regenerativa es un área multidisciplinar emergente que pretende desarrollar nuevos productos o terapias que permitan reparar, sustituir o regenerar tejidos y órganos dañados de pacientes (1). La mayoría de los tratamientos que existen hasta la fecha tienen limitaciones (2,3), lo que ha puesto de manifiesto la necesidad de buscar nuevas estrategias, para lo cual se está investigando con células madre autólogas o alogénicas, de diferentes tipos (4): células madre embrionarias humanas (hESCs), células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSCs), y células madre adultas (ASCs), donde se incluyen las mesenquimales troncales (CMTs), las hematopoyéticas y las tejido-específicas.

Debido a los inconvenientes que conlleva el uso de hESCs y las hiPSCs (5), las ASCs, principalmente las **células mesenquimales troncales (CMTs)**, se han convertido en la terapia más extendida, gracias a su rápida disponibilidad y probada seguridad (6). Estas son células madre multipotentes, que pueden obtenerse de diferentes tejidos como gelatina de Wharton (GW), tejido adiposo (TA) o médula ósea (MO) (7) y diferenciarse, según las condiciones o factores del medio de cultivo utilizados, a células mesodérmicas (8,9), pero también a otros linajes no mesodérmicos (7).

Actualmente, estas células se aplican en campos como el cáncer, la inmunoterapia, la ingeniería de tejidos y la regeneración tisular (7), como por ejemplo en piel y córnea (10,11). La regeneración de tejidos dañados requiere células capaces de proliferar, diferenciarse y contribuir funcionalmente al proceso regenerativo (7), por ello, el uso de hCMTs resulta esperanzador debido a las características que poseen y a su facilidad de obtención.

Tanto la piel como la córnea son dos tejidos constituidos por varias capas de células, donde la más externa sirve de barrera protectora y está constituida por células epiteliales, queratinocitos en el caso de la piel y células epiteliales limbares en el de la córnea, por lo que resulta fundamental el estudio de diferenciación de hCMTs a células de linaje epitelial.

Para que las hCMTs puedan utilizarse como medicamento o como parte de estas terapias clínicas, su producción debe desarrollarse dentro de salas blancas o de GMP (*Good Manufacturing Practices*), las células deben de caracterizarse de forma adecuada y someterse a múltiples controles de calidad como análisis de viabilidad celular, esterilidad, análisis de micoplasmas, endotoxinas y cariotipo.

La International Society of Cellular Therapy (ISCT) ha establecido los criterios (12) que deben de cumplir las hCMTs para su correcta caracterización y que puedan ser aprobadas como

terapias avanzadas: capacidad de adherencia a plástico, la capacidad de diferenciación a adipocitos y osteocitos, la expresión de una serie de marcadores de superficie celular (CD90, CD73, CD105 y CD44) y la no expresión de otros (CD45, CD19, CD11b y HLA-DR) (13).

Dentro de estos marcadores, destacan los relacionados con el sistema HLA, un grupo de genes polimórficos que codifican para tres glicoproteínas: I, II y III, importantes en las funciones inmunológicas (14). Los HLA de clase I (A, B y C), se expresan en casi todas las células nucleadas y plaquetas y presentan péptidos intracelulares a células T citotóxicas (15), mientras que los de clase II (DR, DQ y DP) se encuentran exclusivamente en células del sistema inmune, presentando péptidos exógenos a células T helper (16).

La baja expresión de marcadores HLA tipo I y II y la ausencia de algunas moléculas co-estimuladoras como CD80, CD86 y CD40 ha favorecido su uso alogénico en diferentes patologías por su baja inmunogenicidad. Sin embargo, existe cierta controversia en la literatura sobre si el proceso de diferenciación a otras estirpes celulares favorece la expresión de marcadores HLA (15-20).

El objetivo de este estudio es aislar y caracterizar dos líneas celulares de hCMTs de distintos orígenes (TA y MO) con la realización de todos los controles de calidad GMP y en una segunda fase inducir la diferenciación epitelial *in vitro* mediante su cultivo con medios específicos y analizar la posible variación en la expresión de marcadores HLA clase I y II mediante citometría de flujo.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Caracterización y control de calidad de las Células Mesenquimales Troncales Humanas (hCMTs)

Se ha trabajado con **dos líneas celulares de hCMTs**, una derivada de tejido adiposo (TA) procedente de excedentes de muestras de la Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular (UPCIT) del Complejo Hospitalario Universitario de Granada, y otra derivada de médula ósea (MO), procedente de excedentes de muestras de control de calidad que son enviadas a la UPCIT de Granada; previamente los donantes firman el consentimiento informado autorizando el uso en investigación de las células. Ambas líneas se aislaron y cultivaron en medio de células mesenquimales troncales (MCMT) (17), realizando pases celulares hasta conseguir 12 millones de células necesarias para el estudio de diferenciación.

2.1.1. Viabilidad y cuantificación celular

Cuando las hCMTs alcanzan una confluencia cercana al 100%, se retira el medio de cultivo y se lavan con PBS (1 mL/25cm²). Posteriormente, se incuban con TrypLE Select 1x (1 mL/25cm²) 5 minutos a 37°C, 5% CO₂ y 80% de humedad relativa, tras lo cual, se neutraliza con el doble de volumen de medio de cultivo. Se recogen las células en tubos de 50 mL y se centrifugan 10 minutos a 1500 rpm. Se retira el sobrenadante y se resuspende en el medio de cultivo correspondiente. Finalmente, en un eppendorf de 0,2, se diluyen las hCMTs en Trypan Blue a una proporción 1:10 (v/v), y se cargan por capilaridad en una cámara de Neubauer, que permite, con ayuda del microscopio, realizar el recuento celular.

2.1.2. Esterilidad

La esterilidad se estudia utilizando el sistema BacT/ALERT® 3D, para lo cual, al realizar un cambio de medio o pase celular dentro de la CFL, se recoge el medio en el que se encontraban las hCMTs, incubándose 1 mL en cada uno de los frascos comerciales de análisis de microorganismos anaerobios y aerobios. Estos, por su composición, permiten el crecimiento de un tipo de microorganismo, y gracias al carbón activo, neutralizan el efecto de los antibióticos que pueda haber en el medio, evitando falsos negativos.

Las muestras se mantienen 7 días en incubación, controladas por el sistema cada 10 minutos, período tras el cual, si no se observa ningún cambio colorimétrico, se aseguran las condiciones de esterilidad.

2.1.3. Análisis de Micoplasmas

En la detección por PCR del ADN de micoplasmas en el sobrenadante del MCMT, se utiliza el kit comercial Venor®GeM, validado según la Farmacopea Europea, que incluye los controles interno y positivo (ADN de Mycoplasma orale). Los cebadores del kit son específicos para una región codificante altamente conservada del ARNr 16S del genoma de Mycoplasma, lo que permite la detección de varias especies.

En primer lugar, tras reconstituirse los reactivos y conservarse según las indicaciones del kit, la muestra de medio se calienta a 95°C durante 10 minutos, se centrifuga durante 5 segundos y, se recoge el sobrenadante en un eppendorf estéril, descartando el sedimento. Al mismo tiempo, se prepara la mezcla de reacción de PCR siguiendo las instrucciones del kit y se reparten 23 µL en cada tubo de reacción, añadiendo 2 µL de muestra, 2 µL de control positivo y 2 µL de agua libre de DNA (C. Negativo) respectivamente. Estos se introducen en el termociclador con el siguiente perfil térmico: 1 ciclo a 94°C 30 segundos, 39 ciclos de tres pasos (94°C 30 segundos, 55°C 30 segundos y 72°C 30 segundos) y mantenimiento a 4°C.

Una vez terminado el proceso, se le añaden 6 µL de Loading Dye 5x a cada uno, mezclando bien con pipeta. Finalmente, 5 µL de cada tubo y del marcador de peso molecular se cargan en los pocillos del cassette y se corren las muestras en el gel, a 275V durante 4 minutos con la luz UV encendida y la luz del laboratorio apagada.

En todos los carriles debe observarse una banda de 191 pb correspondiente al control interno, mientras que en el carril del control positivo debe observarse adicionalmente una banda de 267 pb.

2.1.4. Cariotipo

Las hCMTs se siembran en cinco Chamber Slide® (3000 células/cm²) con unos 3 mL de MCMT. Se incuban en la estufa a 37°C, 5% CO₂, cambiando el medio cada 2-3 días hasta que alcancen una confluencia del 60-70%. El día antes de proceder a la detección en metafase, se añaden 120 µL de colcemida (0,4 µg/ml), dejándolos en incubación toda la noche. Al día siguiente se des-

echa el medio, se lavan con 2 mL de KCl 75mM, una solución hipotónica que provoca la lisis celular y salida de cromosomas, y se incuban durante 30-35 minutos con 3 mL de KCl 75mM.

Transcurrido ese tiempo se añaden 3 mL de fijador de Carnoy (metanol y ácido acético glacial en proporción 3:1 (v/v)) y se incuban durante 3 minutos a temperatura ambiente (3X). Finalmente, se despegan los portas y se dejan secar, para posteriormente ser enviados al laboratorio de Citogenética del servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, donde se obtienen las bandas G mediante la tinción de Giemsa.

Para la tinción, se tratan los portas con 2 mL de tripsina al 0,05% (g/v) en PBS entre 10 y 30 segundos, se lavan con agua destilada y se tiñen con Giemsa al 5% (v/v) en agua destilada durante 15 minutos. Por último, se lavan con abundante agua y se interpretan los resultados al microscopio.

2.1.5. Diferenciación a adipocitos (ADP) y osteocitos (OST)

Se siembran 4 T25 (dos controles negativos y dos para diferenciar) a una densidad de 12.000 cél/cm² y 4-5 mL de MCMT. Se incuban a 37°C y 5% CO₂ y se cambia de medio cada 2-3 días hasta que alcancen una confluencia del 85-90% para comenzar la diferenciación a adipocitos, y del 100% para la diferenciación a osteocitos.

Los medios de diferenciación utilizados y los protocolos establecidos tanto para la diferenciación como para la tinción con Oil Red O y Alizarin Red S, se encontraban previamente descritos (18).

2.1.6. Análisis fenotípico por citometría de flujo (CMF)

Para terminar la caracterización de las hCMTs se utiliza la CMF, utilizando anticuerpos monoclonales específicos frente a distintas proteínas de superficie, en este caso CD90, CD73, CD105 y CD 44 > 80 % y CD45, CD11b y CD19 < 20 %, además de los HLA de clase I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) y el HLA de clase II (HLA-DR) < 20% (BD Biosciencias, San Jose, CA, USA). Este panel de anticuerpos monoclonales está establecido por el Servicio de Análisis Clínicos (Sección de Citometría/Biopatología tumoral) del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, para identificar hCMTs, al cual se le ha incluido el HLA de clase I.

Se recogen 1 millón de hCMTs/tubo que se centrifugan 30-60 segundos a 8.000-14.000 rpm y resuspenden en 0,5 mL de PBS. El tubo se envía al Servicio de Análisis Clínicos, que prepara las siguientes combinaciones de marcadores con 7 µL de cada anticuerpo:

Tubo 1 (control isotipos): IgG1 PerCP-Cy5, IgG1 PE, IgG1 FITC y IgG1 APC

Tubo 2: CD45-FITC / CD19 PerCP-Cy5 / CD73-PE / CD90-APC

Tubo 3: HLA-DR-FITC / CD105-PE / CD11b-APC / CD44 PerCP-Cy5

Tubo 4: HLA-ABC-APC

A cada tubo se le añaden 100.000 de hCMTs, se mezclan, agitando suavemente y se incuban 30 minutos a temperatura ambiente. Después, se lavan con PBS y centrifugan 5 minutos a 1.500 rpm (2X). Por último, se resuspenden en 0,5 mL de PBS y se analizan inmediatamente, adquiriendo un mínimo de 5.000 eventos para cada tubo.

Para la interpretación de los resultados se establecen las ventanas de lectura y con el programa Infinicyt™ se analizan los histogramas determinando la expresión y porcentajes de cada uno de los marcadores.

2.2. Diferenciación *in vitro* de las hCMTs a células de linaje epitelial

Las hCMTs derivadas de TA y MO se mantienen en cultivo con sus correspondientes fases hasta que se obtiene una cantidad mínima de 12 millones, que se siembran en dos factorías de 1 piso (9.524 hCMTs/cm²). En este momento, las hCMTs se incuban con 100 mL/factoría de medio de diferenciación a queratinocitos (MQT), el cual está constituido, además de por DMEM, suero bovino fetal, glutamina y antibióticos (anfotericina B y gentamicina) que son componentes habituales de los medios de cultivo, por factores de crecimiento epidérmico y de queratinocitos (19) que estimulan la proliferación, debido su capacidad mitogénica, y diferenciación celular a estirpe epitelial al actuar sobre receptores específicos de superficie celular que activan los procesos de morfogénesis del epitelio y reepitelización. Con este, se mantienen entre 3 y 4 semanas hasta que adquieran una morfología esférica y formen colonias típicas de queratinocitos, cambiando el medio cada 2-3 días.

2.2.1. Análisis histológico e inmunohistoquímico de las células diferenciadas

Tras la diferenciación, las células se recuperan, cuentan y determina su viabilidad. Para realizar el estudio, se recogen en dos eppendorfs con tapón de rosca, 1 millón de hCMTs/tubo que se centrifugan 30-60 segundos a 8.000-14.000 rpm y se retira el sobrenadante dejando sólo el pellet. Un tubo se envía al Servicio de Anatomía Patología del Hospital Universitario de Granada, mientras que el otro se conserva a 4°C por si fuese necesario repetir el experimento.

Para determinar la histología, se realiza una tinción de Hema-txilina y Eosina (H&E), mientras que para la inmunohistoquímica se estudian las siguientes proteínas: CK Multi-Pan Clon MNF116 (CK5, 6, 8 17 y 19), CK14 y vimentina (10, 20, 21).

El pellet celular se fija con formol tamponado al 4%, durante aproximadamente 12-24 horas, a continuación, con un papel muy fino, se rescata el pellet y se introduce en un cassette en el procesador de tejidos ON (el cassette pasa por formol, alcohol 100º, xilol y parafina). Al día siguiente se realiza el bloque de parafina en una estación de inclusión y se corta con un micrótopo a 2,5 micras.

Para la histología, se añade la tinción de H&E a los cristales y se deja secar 24 horas a 37°C o 1 hora a 60°C.

Para la inmunohistoquímica, el pellet celular embebido en parafina requiere un desmascaramiento antigénico, que en el caso de las CK-pan, la CK14 y la vimentina se realiza con EDTA (pH 8), 20 minutos a 95°C dentro de un módulo PT Link.

Tras esto, se bloquea con peroxidasa durante 10 minutos, se incuban otros 10 con el anticuerpo primario y lo mismo con el secundario. A continuación, se incuban con un polímero durante 15 minutos y se revela con diaminobencidina (DAB), al cual durante 2 minutos se le añade un amplificador específico. Además, se realiza una contratinción con Hematoxilina (Hx) durante 20 segundos.

Entre cada fase del proceso se lava con buffer y tras la Hx, con agua para azulearla. Finalmente se deshidrata (con alcoholes crecientes 96º-100º) y se aclara con xilol para su posterior montaje y detección.

2.2.2. Análisis fenotípico y HLA por CMF de las células diferenciadas

Se recuperan las células y la técnica y los marcadores utilizados en este caso son iguales a lo descrito anteriormente (véase el punto 2.1.6.).

RESULTADOS

3.1. Control de calidad y caracterización de las hCMTs procedentes de TA y MO

Se analizó la viabilidad de ambas líneas a lo largo de todo el proceso, que se mantuvo por encima del 80%, y en cuanto al número de células, cabe destacar la mayor velocidad proliferativa de las procedentes de MO durante la fase de expansión y una menor proliferación que las de TA tras la inducción de la diferenciación. En la figura 1a se indica además la tasa de expansión y duplicación celular. (Figura 1a). En lo referente a la esterilidad, la prueba con el sistema BacT/ALERT® 3D resultó negativa a los 7 días, igual que el análisis de micoplasmas, debido a la ausencia de las bandas características de peso molecular de micoplasmas (267 pb) (Figura 1b). Al realizar el cariotipo de ambas líneas celulares de hCMTs, se descartó la presencia de alteraciones genéticas a nivel cromosómico en ambas líneas (Figura 1c).

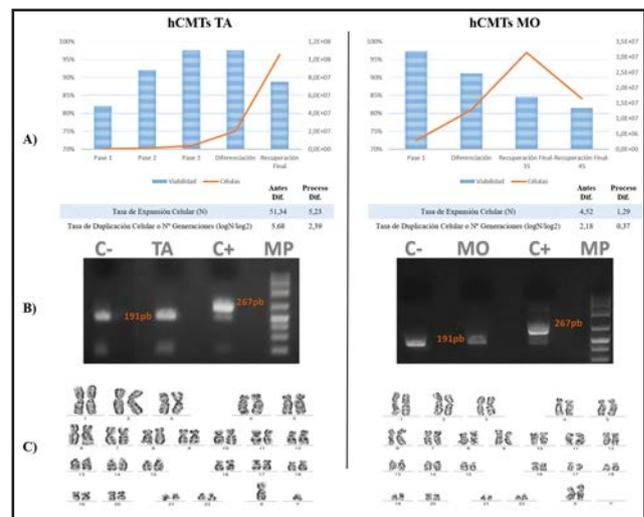


Figura 1. Resultados de la prueba del control de calidad de las hCMTs. A la izquierda las de Tejido Adiposo (TA) y a la derecha las de Médula Ósea (MO). A) Gráficos de viabilidad y cuantificación celular a lo largo de todo el proceso, con los valores de Tasa de Expansión y Duplicación Celular, antes y durante el proceso de diferenciación, B) Resultados de la PCR para la detección de Micoplasmas y C) Imagen del cariotipo.

Para la caracterización de las hCMTs, ambas líneas celulares se diferenciaron a adipocitos y a osteocitos. Tras mantenerlas tres semanas con los medios de diferenciación correspondientes, se tiñeron de manera específica, con Oil Red O los adipocitos y con Alizarin Red S los osteocitos, observándose en ambos casos un color rojo característico, correspondiente a los depósitos de lípidos y calcio respectivamente, que no estaba presente en los controles (Figura 2).

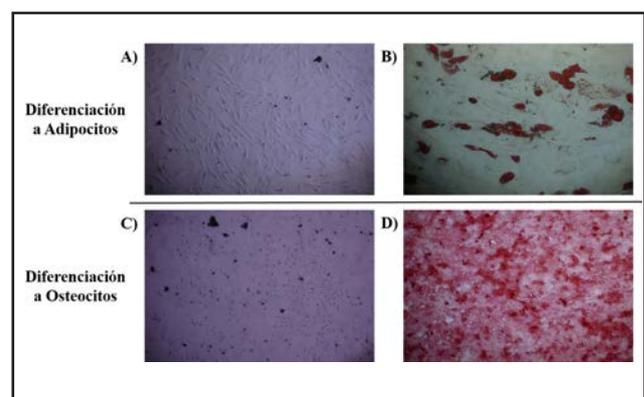


Figura 2. Resultados de las pruebas de diferenciación de las hCMTs a Adipocitos y Osteocitos. A) Control negativo de diferenciación a Adipocitos, B) Prueba de diferenciación a Adipocitos, de color rojo las gotas lipídicas teñidas de Oil Red O, C) Control negativo de diferenciación a Osteocitos y D) Prueba de diferenciación a Osteocitos, de color rojo los depósitos de calcio teñidos de Alizarin Red S.

Las hCMTs se caracterizaron también mediante un análisis por citometría de flujo (CMF), con el cual se comprobó la expresión de marcadores requeridos por la Sociedad Internacional de Terapia Celular y la ausencia de expresión de los marcadores HLA de clase I y clase II (*Tabla 1*).

Marcador	Criterios de aceptación (% células positivas)	Resultado HCMTs TA (% células positivas)	Resultado HCMTs MO (% células positivas)
cd45	< 20%	0	0
cd19	< 20%	0	0
cd11b	< 20%	0	0
hla-dr (clase ii)	< 20%	0	0
hla-abc (clase i)	*sin determinar	0	0
cd90	>80%	99%	96,9%
cd73	>80%	96%	99,7%
cd105	>80%	95%	99,3%
cd44	>80%	99,5%	99,6%

*Tabla 1. Resultados de la Citometría de flujo antes de la diferenciación de las hCMTs de TA y MO y criterios de aceptación para ser consideradas como células madre. *HLA-ABC no está descrito como marcador típico de células madre pero se ha incluido para observar posibles diferencias tras el proceso de diferenciación.*

3.2. Estudio de diferenciación in vitro de las hCMTs a células de linaje epitelial

Las hCMTs se diferenciaron y mantuvieron durante 3 semanas las de TA y durante 3 y 4 semanas las de MO, al observarse un proceso de diferenciación más lento. Tras ese periodo, se recuperaron y prepararon para su análisis histológico, inmunohistoquímico y fenotípico.

El análisis realizado demostró indicios de diferenciación de las hCMTs a células de linaje epitelial. Desde el punto de vista histológico, la tinción de H&E determinó el cambio de morfología celular con presencia de células de aspecto epitelioide, similares a los queratinocitos de la piel o las células limbares de la córnea. En el estudio inmunohistoquímico, el análisis de los marcadores de citoqueratinas (CK5, 6 y 14) y filamentos intermedios (vimentina), reveló una menor diferenciación de las hCMTs de MO a las 3 semanas (*Figura 3*), debido a la expresión mínima de estos marcadores. En el caso de las hCMTs de TA y MO diferenciadas a las 3 y 4 semanas respectivamente (*Figura 4*), se observó un leve incremento de la expresión de los marcadores.

El análisis por citometría de flujo del panel de marcadores definido mostró (*Tabla 2*) una pérdida significativa de expresión de CD73 y CD105, sobre todo a las 3 semanas de diferenciación de las de origen de TA y a las 4 de las de MO.

3.3. Estudio de expresión de HLA I y II

La expresión de los marcadores de HLA I y II fue negativa en las células en las que se indujo la diferenciación tanto de origen de MO como de TA a las 3 y 4 semanas (*Tabla 2*).

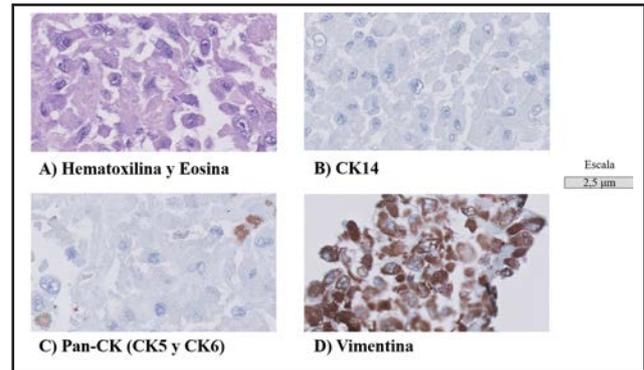


Figura 3. Imágenes del análisis histológico e inmunohistoquímico de las hCMTs de MO diferenciadas durante 3 semanas. A) Tinción con Hematoxilina y Eosina, B) Inmunohistoquímica de CK14, C) PanCitoqueratina y D) Estudio de vimentina.

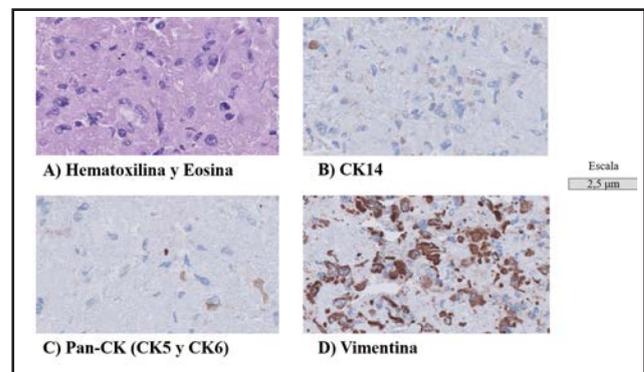


Figura 4. Imágenes del análisis histológico e inmunohistoquímico de las hCMTs de MO diferenciadas durante 4 semanas. Se observaron similares resultados en las hCMTs de TA diferenciadas durante 3 semanas. A) Tinción con Hematoxilina y Eosina, B) Inmunohistoquímica de CK14, C) Pan-Citoqueratina y D) Estudio de vimentina.

Marcador	Resultado QT DE HCMTs TA (% Célula positivas)	Resultado QT DE HCMTs MO (% Células positivas)-3S	Resultado QT DE HCMTs MO (% Células positivas)-4S
CD45	0	0	0
CD19	0	0	0
CD11b	0	0	0
HLA-DR (Clase II)	0	0	0
HLA-ABC (Clase I)	0	0	0
CD90	93,7%	98%	97,8%
CD73	Expresión débil	94,3%	33%
CD105	Débil o negativo	98,1%	25%
CD44	95,1%	97,99%	96,1%

Tabla 2. Resultados de la Citometría de flujo después de la diferenciación de las hCMTs de TA y MO (3 y 4 semanas).

DISCUSIÓN

La diferenciación *in vitro* de hCMTs de diferentes orígenes (TA y MO) a células de estirpe epitelial, durante 3 y 4 semanas es compleja como sugieren estudios previos (10,11). Los análisis histológicos e inmunohistoquímicos realizados han mostrado indicios de diferenciación epitelial como el cambio de la morfología celular y la expresión tenue de proteínas específicas epiteliales (10,20,21). El análisis por citometría de flujo de marcadores específicos para células mesenquimales ha mostrado la disminución de la expresión de algunos marcadores como CD73 y CD105 y la ausencia de expresión de los HLA I y II podría tener interesantes implicaciones en el ámbito de la regeneración tisular al facilitar el uso de células alogénicas.

La adecuada caracterización celular (26), antes de la diferenciación, acompañada de sus correspondientes controles de calidad en el contexto GMP, son requisitos necesarios imprescindible para asegurar que se está trabajando con hCMTs útiles para ensayos *in vitro* o *in vivo*.

En este estudio, los controles de calidad de las hCMTs muestran una viabilidad celular superior al 80% en todo el proceso de expansión y diferenciación, siendo menor en esta última etapa debido a que se somete a las células a un cambio crítico. En cuanto a los estudios de esterilidad y análisis de micoplasmas, ambos han resultado negativos, indicativo de que las condiciones de trabajo y mantenimiento de los cultivos es el adecuado, evitándose así el crecimiento de microorganismos que afectarían a los resultados obtenidos. Por último, el cariotipo normal de ambas líneas, descarta cualquier anomalía genética del tipo aneuploidía o euploidía, y constituye uno de los controles de calidad necesarios para el trabajo en un entorno GMP, en futuros estudios será necesario la realización de cariotipos seriados durante en el proceso de diferenciación celular.

Las hCMTs de TA y MO se adhieren fácilmente a los frascos de cultivo, perdiendo esta capacidad únicamente al final del proceso de diferenciación a células epiteliales, que no son capaces de adherirse a plástico (22). Además, las hCMTs se han diferenciado a adipocitos y osteocitos y el análisis fenotípico ha mostrado ausencia de expresión de marcadores como CD45, CD11b y CD19 y relacionados con la respuesta inmune (HLA-DR) y la expresión de otros marcadores como CD90, CD73, CD105 y CD44 (13).

Las hCMTs de TA, han mostrado indicios de diferenciación epitelial a partir de las 3 semanas tras los análisis histológicos e inmunohistoquímicos. Estas, han expresado débilmente proteínas específicas de piel (CK5, 6 y 14), implicadas en procesos de estabilidad epidérmica debido a su capacidad de unión por desmosomas y hemidesmosomas (CK5 y 14) y de migración y reepitelización (CK6) (23); y de filamentos intermedios (vimentina) importantes en uniones celulares (desmosomas) (24); y han dejado de expresar, casi totalmente, los marcadores CD73 (ecto-5'-nucleotidasa) y CD105 (endoglina), proteínas implicadas en la proliferación y adhesión celular (25,26).

Las hCMTs de MO, han necesitado 4 semanas para mostrar indicios de diferenciación y la expresión de CD73 y CD105, no se ha visto tan reducida como en el caso de las células de TA, lo que sugiere más dificultades para la diferenciación a células epiteliales.

La inclusión de la caracterización de los HLA de clase I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) y de clase II (HLA-DR), relacionados con la respuesta inmune, constituye un aspecto interesante de este trabajo. En las células estudiadas, tanto de TA como de MO, no se han expresado HLA de clase I y II, ni antes ni después de la diferenciación, lo que favorecería el uso de estas células de origen alogénico en constructos de piel o córnea creadas por ingeniería de tejidos. Sin embargo, merece la pena destacar que estos resultados podrían verse modificados dependiendo del estado de las hCMTs, puesto que según algunos estudios, estas pueden expresar HLA I (17,27,28) o no (29), lo cual parece que se debe al número de pases que las células han sufrido antes del análisis

fenotípico, al observarse que a partir de 20 existe una expresión significativa del mismo (30), indicativo de que las características de las hCMTs varían con la edad, perdiendo plasticidad celular, con lo que habría que tenerlo en cuenta en futuros estudios.

Aunque los resultados de este estudio son interesantes, la optimización del proceso de diferenciación *in vitro*, el uso de marcadores inmunohistoquímicos más específicos y determinar si con el tiempo en cultivo las células modifican su perfil de expresión de HLA de clase I son algunas de las limitaciones de este trabajo.

CONCLUSIONES

La ausencia de expresión de marcadores de HLA tipo I y II en células hCMTs de TA y MO que han mostrado indicios de diferenciación epitelial *in vitro*, sugieren su potencial uso alogénico en tejidos creados por ingeniería de tejidos como la piel o córnea disminuiría el riesgo de rechazo, sin embargo, son necesarios más estudios a nivel preclínico para confirmar estos resultados preliminares.

AGRADECIMIENTOS

Laboratorio de Citogenética del servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Servicio de Análisis Clínicos (Sección de Citometría/Biopatología tumoral) del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

FINANCIACIÓN PARCIAL

FIS ISC-III and FEDER PI13/02576

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Witten CM, McFarland RD, Simek SL. Concise Review: The U.S. Food and Drug Administration and Regenerative Medicine. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4(12):1495–9.
2. Mao AS, Mooney DJ. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(47):14452–9.
3. Tsukamoto A, Abbot SE, Kadyk LC, DeWitt ND, Schaffer D V., Wertheim JA, et al. Challenging Regeneration to Transform Medicine. *Stem Cells Transl Med.* 2016;5(1):1–7.
4. Heslop JA, Hammond TG, Santeramo I, Tort Piella A, Hopp I, Zhou J, et al. Concise review: workshop review: understanding and assessing the risks of stem cell-based therapies. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4(4):389–400.
5. Atala A. Regenerative medicine strategies. *J Pediatr Surg.* 2012;47:17–28.
6. Fisher MB, Mauck RL. Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation. *Tissue Eng Part B Rev.* 2013;19(1):1–13.
7. Stoltz J-F, De Isla N, Li YP, Bensoussan D, Zhang L, Huselstein C, et al. Stem Cells and Regenerative Medicine: Myth or Reality of the 21st Century. *Stem Cells Int.* 2015;2015.
8. L Ramos T, Sánchez-Abarca LI, Muntión S, Preciado S, Puig N, López-Ruano G, et al. MSC surface markers (CD44, CD73, and CD90) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry. *Cell Commun Signal.* 2016;14:2.

9. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*.1999;284(5411):143–7.
10. Garzón I, Martín-Piedra MA, Alfonso-Rodríguez C, González-Andrades M, Carriel V, Martínez-Gómez C, et al. Generation of a biomimetic human artificial cornea model using Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(7):4073–83.
11. Garzón I, Miyake J, González-Andrades M, Carmona R, Carda C, Sánchez-Quevedo M del C, et al. Wharton's jelly stem cells: a novel cell source for oral mucosa and skin epithelia regeneration. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(8):625–32.
12. Maleki M, Ghanbarvand F, Behvarz MR, Ejtemaei M, Ghadirkhomi E. Comparison of Mesenchymal Stem Cell Markers in Multiple Human Adult Stem Cells. *Int J Stem Cells*. 2014;7(2).
13. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*.2006;8(4):315–7.
14. Trivedi VB, Dave AP, Dave JM, Patel BC. Human Leukocyte Antigen and Its Role in Transplantation Biology. *Transplant Proc*. 2007;39(3):688–93.
15. Long EO, Jacobson S. Pathways of viral antigen processing and presentation to CTL: defined by the mode of virus entry? *Immunol Today*. 1989;10(2):45–8.
16. Stern LJ, Wiley DC. Antigenic peptide binding by class I and class II histocompatibility proteins. *Structure*. 1994;2:245–51.
17. Abumaree MH, Abomaray FM, Alshehri NA, Almutairi A, AlAskar AS, Kalionis B, et al. Phenotypic and Functional Characterization of Mesenchymal Stem/Multipotent Stromal Cells From Decidua Parietalis of Human Term Placenta. *Reprod Sci*. 2016; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26902429>
18. Dauleh S, Santeramo I, Fielding 1ª C, Ward K, Herrmann A, Murray P, et al. Characterisation of Cultured Mesothelial Cells Derived from the Murine Adult Omentum. *PLoS One*. 2016;11(7).
19. Shokrgozar MA, Fattahi M, Bonakdar S, Ragerdi Kashani I, Majidi M, Haghighipour N, et al. Healing potential of mesenchymal stem cells cultured on a collagen-based scaffold for skin regeneration. *Iran Biomed J*. 2012;16(2):68–76.
20. Chavez-Munoz C, Nguyen KT, Xu W, Hong S-J, Mustoe TA, Galiano RD. Transdifferentiation of adipose-derived stem cells into keratinocyte-like cells: engineering a stratified epidermis. *PLoS One*. 2013;8(12):e80587.
21. SundarRaj N, Rizzo JD, Anderson SC, Gesiotto JP. Expression of vimentin by rabbit corneal epithelial cells during wound repair. *Cell Tissue Res*. 1992;267(2):347–56.
22. Llamas SG, Del Rio M, Larcher F, García E, García M, Escamez MJ, et al. Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. *Transplantation*. 2004;77(3):350–5.
23. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology. *Histochem Cell Biol*. Springer; 2008;129(6):705–33.
24. Pérez-Sala D, Oeste CL, Martínez AE, Carrasco MJ, Garzón B, Cañada FJ. Vimentin filament organization and stress sensing depend on its single cysteine residue and zinc binding. *Nat Commun*. 2015;6:7287.
25. Gao Z-W, Dong K, Zhang H-Z. The Roles of CD73 in Cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
26. Nassiri F, Cusimano MD, Scheithauer BW, Rotondo F, Fazio A, Yousef GM, et al. Endoglin (CD105): a review of its role in angiogenesis and tumor diagnosis, progression and therapy. *Anticancer Res*. 2011;31(6):2283–90.
27. Abumaree MH, Al Jumah MA, Kalionis B, Jawdat D, Al Khaldi A, AlTalabani AA, et al. Phenotypic and functional characterization of mesenchymal stem cells from chorionic villi of human term placenta. *Stem Cell Rev*. 2013;9(1):16–31.
28. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringdén O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 2003;31(10):890–6.
29. Technau A, Froelich K, Hagen R, Kleinsasser N. Adipose tissue-derived stem cells show both immunogenic and immunosuppressive properties after chondrogenic differentiation. *Cytotherapy*. 2011;13(3):310–7.
30. Shin K-S, Na K-H, Lee H-J, Kim D-G, Shin S-J, Kim JK, et al. Characterization of Fetal Tissue-derived Mesenchymal Stem Cells. *Int J stem cells*. 2009;2(1):51–8.

Listado de verificación quirúrgica: buscando la implicación de profesionales y pacientes

Surgical checklist: seeking the involvement of professionals and patients

Ascension Sanchez-Martinez ^{1*}, Fco. Miguel Gonzalez-Valverde ^{2*}, Miguel Ruiz-Marin ^{3*}, Pilar Martínez-González ^{4*}, Esther Canovas-Alcazar ^{5*}, Ángeles R. Sáez Soto ^{6*}

¹ Médico Responsable de Gestión del Riesgo Sanitario. Servicio Medicina Preventiva.

² Facultativo Especialista de Área. Cirugía General y del Aparato Digestivo. Coordinador de Investigación del Área VII de Salud del Servicio Murciano de Salud. Unidad Funcional de Seguridad del Paciente.

³ Facultativo Especialista de Área. Cirugía General y del Aparato Digestivo. Responsable del Listado de Verificación Quirúrgica del Centro. Unidad Funcional de Seguridad del Paciente. Hospital General Universitario Reina Sofía de Murcia.

⁴ Enfermera. Supervisora de Enfermería del Área Quirúrgica. Unidad Funcional de Seguridad del Paciente.

⁵ Facultativo Especialista de Área. Cirugía Ortopédica y Traumatología. Unidad Funcional de Seguridad del Paciente.

⁶ Enfermera. Subdirectora de Enfermería. Unidad Funcional de Seguridad del Paciente.

* Unidad Funcional de Seguridad del Paciente. Hospital General Universitario Reina Sofía de Murcia.

Resumen

Objetivos: Los objetivos fueron mejorar la adherencia al listado de verificación quirúrgica (LVQ), identificar barreras y reclamar el apoyo de profesionales y pacientes.

Material y Métodos: Se registró la participación en el proyecto PaSQ-WP5/ LVQ entre 2013 y 2015: Plan de Acción con dos líneas de trabajo, dirigidas a profesionales y pacientes, que contemplaban rondas de evaluación, análisis de barreras, evaluación de percepción del listado mediante cuestionarios de la Hauté Autorité de Santé, formación en seguridad y diseño del folleto Cirugía Segura Salva Vidas.

Resultados: Los datos de presencia del LVQ en la historia clínica reflejaron una mejora estadísticamente significativa respecto a los iniciales. En 68,2% de las rondas se cumplimentó el listado correctamente. La opinión del profesional sobre la utilidad del listado fue positiva en 79,8% y consideró que había ayudado a identificar e interceptar incidentes de seguridad en 25,6%. Sin embargo, resultó difícil de aplicar durante urgencias quirúrgicas (51,8%), al enfermero le costó gestionar el listado (59,5%) y el intercambio de información en voz alta se interrumpió con frecuencia (51,2%). Del análisis de barreras destacaron el sobre-registro, falta de liderazgo del gestor del listado, escasa implicación de facultativos y ausencia de trabajo en equipo.

Conclusiones: La implantación del LVQ fue laboriosa pero la implicación de profesionales y pacientes ayudó a avanzar en la cultura de seguridad. La actitud general de los sanitarios es positiva y por tanto no se trata de imponer el uso obligatorio del LVQ, sino de convencer de que su cumplimiento reduce los eventos adversos evitables.

Abstract

Objectives: To improve the adhesion to the surgical safety checklist (SSC), identify barriers and claim the support of professionals and patients.

Methods: The experience includes our participation in the Pasq-WP5 / SSC project, directed to surgical professionals and patients. An Action Plan was developed from 2013 to 2015 with two lines of work, one for professionals and other for patients; whose activities are: evaluation rounds, barrier analysis, evaluation SSC perception (using Hauté Autorité de Santé questionnaires), safety training and brochure design Safe Surgery Saves Lives.

Results: Data of SSC in the medical record reflect a statistically significant improvement. In 68.2% of the rounds, SSC was filled in correctly. Professional opinion on the usefulness of SSC is positive in 79.8%; consider that it is difficult to apply in emergency in 51.8%, it is difficult for a nurse to manage the SSC in 59.5%, the exchange of information aloud is difficult to obtain in 51.2% and the SSC has helped identify and intercept security incidents 25.6%. Analysis of barriers includes the over-registration, lack of leadership SSC manager, limited involvement of doctors and lack of teamwork.

Conclusions: The involvement of professionals and patients will help further progress in safety culture. The goal is not to impose the SSC, but convinced that compliance reduce preventable adverse events.

Palabras clave: Seguridad del paciente; Eventos adversos; Listado de verificación quirúrgica; Cirugía segura.

Keywords: Patient Safety; Adverse events; surgical safety checklist; Safe Surgery.

INTRODUCCIÓN

Los procedimientos quirúrgicos son una parte muy importante de la actividad asistencial de un hospital y, por tanto, su calidad y seguridad son un motivo de preocupación común a todos los sistemas sanitarios. En 2004 la Organización Mundial de la Salud (OMS) creó la Alianza Mundial para la Seguridad del Paciente con el fin de promover la sensibilización y el compromiso político de mejorar la seguridad de la atención sanitaria. Un elemento fundamental del trabajo de la Alianza es la formulación de retos mundiales por la seguridad del paciente, motivo por el cual en el año 2008 promovió su "Segundo reto mundial por la seguridad del paciente: la cirugía segura salva vidas". La iniciativa propuso la implementación de un instrumento de verificación documental: el Listado de verificación quirúrgica (LVQ), que contribuyera a garantizar el cumplimiento de las normas básicas de seguridad en los procedimientos quirúrgicos, actuara como barrera a los incidentes adversos y acreditara la buena praxis de los profesionales implicados (1). Poco después, en 2010, el Ministerio de Sanidad publicó la Guía de Práctica Clínica para la Seguridad del Paciente Quirúrgico en la que se valoraba la utilización del listado con nivel de evidencia de calidad baja y recomendación fuerte (2).

En este sentido, la Red Europea de Seguridad del Paciente y la Calidad Asistencial (PaSQ) es un proyecto cofinanciado por la Comisión Europea dentro del Programa de Salud Pública que pretende facilitar el intercambio de experiencias entre los estados miembros de la Unión Europea que participan en la implementación de prácticas seguras, entre las que se encuentra la cirugía segura. España participa como socio activo y coordinador desde la Subdirección General de Calidad y Cohesión del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

El Hospital General Universitario Reina Sofía de Murcia, adherido al proyecto PaSQ, es un hospital de segundo nivel que atiende un área de salud con una población cercana a los 200.000 habitantes y dispone de 12 quirófanos con un tiempo efectivo de ocupación medio superior al 89% en cirugía mayor. Nuestra experiencia con la implantación del LVQ fue presentada en la Conferencia Europea de Seguridad del Paciente: Implementación de prácticas seguras en el marco de la acción colaborativa PaSQ celebrada en octubre de 2015 en Madrid y tuvo una buena acogida entre los expertos. Presentamos un trabajo que, pese a no tratarse de un estudio directamente extrapolable, analiza la situación actual de muchos servicios sanitarios y los posibles factores asociados al fracaso de la implantación del check-list, creando un ambiente favorable para el debate sobre la correcta aplicación de la normativa sobre seguridad en quirófano.

Objetivos

Generales: Mejorar la adherencia al listado de verificación quirúrgica. Reclamar el apoyo de los profesionales y pacientes

Específicos: evaluar la percepción del LVQ en el área quirúrgica, identificar las barreras que dificultan su implementación, y constituir una red permanente de trabajo, colaborativa y estable, en torno a la calidad y seguridad del paciente quirúrgico.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población diana a la que se dirigió la experiencia fueron los profesionales del área quirúrgica, médicos y enfermeros, de todas las especialidades quirúrgicas de nuestro hospital (cirugía general, traumatología, ginecología, urología, dermatología, oftalmología, cirugía maxilofacial y otorrinolaringología) y anestesia. De igual forma se desarrollaron actividades dirigidas a los pacientes intervenidos de forma programada y de urgencias, con o sin ingreso hospitalario.

Como consecuencia de nuestra adhesión al proyecto se elaboró un Plan de Acción, adaptando el LVQ a las características de nuestra institución y tomando como referencia los datos de situación previa, evaluados mediante nivel de cumplimentación del listado (datos de 2013) y los de la observación directa realizada durante 2012.

En la observación se evaluó el seguimiento de la metodología recomendada por la OMS. Para ello se instruyó a cinco observadores y se realizó un estudio de concordancia de atributos para la evaluación de sus respuestas (índice de concordancia de Kappa). Se diferenció cada uno de los tres momentos del listado: entrada, pausa y salida.

El plan de acción consta de dos líneas de trabajo, una dirigida hacia los profesionales y otra hacia los pacientes, organizadas por las siguientes actividades en el período 2013-2015:

I. Actividades dirigidas hacia los profesionales:

- Nombramiento de un facultativo, especialista en cirugía general, como responsable del proyecto.

- Difusión a los servicios quirúrgicos de la incorporación del hospital a la acción cooperativa PaSQ-WP5/Listado de verificación quirúrgica, recordando la responsabilidad de que esta práctica segura debe ser asumida por todos los miembros del equipo quirúrgico.

- Revisión y modificación del procedimiento del listado de verificación (elaborado en 2009) sin variar el número de items, adaptándolo a nuestro flujo de pacientes y circuitos de trabajo e incluyendo las responsabilidades específicas de cada miembro del equipo quirúrgico en la cumplimentación del mismo.

- Formación de un equipo de siete profesionales como instructores del listado. Para la formación se utilizó el vídeo "Conecta con la lista OMS", realizado e interpretado por profesionales de nuestro hospital y disponible en la página web de murciasalud (<http://www.murciasalud.es/pagina.php?id=231052>).

- Evaluación del nivel de cumplimentación del listado en los pacientes intervenidos.

Realización de rondas de evaluación, cuyo objetivo fue monitorizar in situ la correcta cumplimentación del listado y asesorar en los errores identificados. Se hizo especial hincapié en el trabajo en equipo y mejora de la comunicación. Las rondas fueron realizadas por los instructores formados a tal efecto.

- Evaluación de la percepción del listado por parte de los profesionales, mediante una encuesta extraída de los cuestionarios de la HAS (Hauté Autorité de Santé), aportados por el Proyecto de la Red Europea para la Seguridad del Paciente y la Calidad Asistencial (figura 1).

- Análisis de barreras, que se realizó utilizando la técnica de tormenta de ideas y grupo nominal.

Formación en seguridad a todos los miembros del equipo quirúrgico. Se programaron diez sesiones de 20 minutos, que versaron sobre los incidentes de seguridad notificados relacionados con errores de identificación, sitio equivocado, errores de muestras, etc.; se enfatizó en la cultura del trabajo en equipo y el aprendizaje de los errores como base del LVQ, en particular, y de la seguridad en el ámbito sanitario, en general, así como en la gravedad y relevancia de los sucesos que se pueden evitar.

Colaboración en un proyecto nacional de uso del listado liderado por el Ministerio de Sanidad.

Evaluación de los indicadores propuestos por la Joint Action PaSQ: Porcentaje de pacientes intervenidos a los que se les ha aplicado la LVSQ y mortalidad postoperatoria.

Marca con una cruz lo que corresponda <input type="checkbox"/> Cirujano <input type="checkbox"/> Anestesta <input type="checkbox"/> Enfermero <input type="checkbox"/> Residente <input type="checkbox"/> Otro				
¿Cuál es tu opinión sobre la utilización del listado?	1. Totalmente en desacuerdo	2. En desacuerdo	3. De acuerdo	4. Muy de acuerdo
	1	2	3	4
El listado mejora el intercambio de información sobre el paciente y/o la intervención dentro del equipo				
El listado permite la verificación cruzada de ciertos puntos esenciales antes de la realización de la intervención				
El listado es una oportunidad para evitar errores o disfunciones durante la realización de la intervención				
El listado contribuye a desarrollar la cultura de seguridad				
El listado es un instrumento interesante para los profesionales en formación (médicos y enfermeros)				
¿Cuáles son las dificultades derivadas de la utilización del listado?	1	2	3	4
El listado es una formalidad administrativa suplementaria				
Comporta una pérdida de tiempo o enlentece la actividad				
Es inútil para ciertas intervenciones con experiencia				
Es inútil para los equipos estables				
Es difícil de aplicar en las intervenciones de urgencias				
Es difícil para un enfermero gestionar el listado, en particular si no tiene apoyo de los médicos				
El intercambio de información en voz alta entre los diferentes profesionales implicados es difícil de obtener				
La elección de las respuestas es inapropiada/no lo bastante flexible				
El listado puede ocasionar problemas médico-legales, en caso de evento adverso				
Percepción global sobre la utilidad del listado	1	2	3	4
Considerando los aspectos positivos y negativos, usted diría que el listado es útil para mejorar la seguridad de los pacientes durante las intervenciones quirúrgicas				
	1	2	3	4
Me sentiría seguro si tuviera que ser tratado como paciente en este establecimiento				
Compartir información entre profesionales en el área quirúrgica antes de una intervención es importante para la seguridad del paciente				
Me siento alentado por mis colegas a declarar todos los eventos relacionados con la seguridad que yo pueda conocer				
Los médicos y enfermeras trabajan en el área quirúrgica en equipos bien coordinados				
Los profesionales observan escrupulosamente las reglas o recomendaciones establecidas en el área quirúrgica				
Identificación de eventos que no deben volver a suceder (sucesos centinela)				
¿Ha observado en el curso del año pasado tales eventos?	SI	NO	NO SÉ	
Error de identificación				
Error de sitio quirúrgico				
Error de material implantado				
Olvido de material/compresa tras la intervención				
¿El listado ha ayudado a identificar e interceptar eventos portadores de riesgos?				
Error de identificación				
Error de sitio quirúrgico				
Error de material implantado				

Figura 1. Encuesta sobre percepción del listado.

II. Actividades buscando la implicación de los pacientes:

Se diseñó el folleto informativo Cirugía Segura Salva Vidas, que se entregó al paciente en la consulta previa a la intervención (Figura 2).

"Compromiso asistencial impregnado de valores"

Información para pacientes

Cirugía segura salva vidas

ÁREA DE SALUD VII MURCIA ESTE

Edita: Unidad Técnica de Comunicación

Modelo: F171-43
Edición: 03
Elabora: Unidad Técnica de Comunicación
Autor: Unidad Funcional de Seguridad del Paciente
Fecha de elaboración: mayo, 2014
Fecha de revisión: marzo, 2017
Revisado por: Grupo de Trabajo de Gestión de Procedimientos, marzo, 2014
Aprobado: Comisión de Dirección, marzo, 2014
Distribución: Área de Salud VII, Murcia Este.

Región de Murcia

Murciano

ÁREA DE SALUD VII MURCIA ESTE

HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA

Para una adecuada asistencia sanitaria es aconsejable que el paciente colabore activamente con el personal médico y de enfermería.

Los estudios indican que cuando los pacientes se involucran en su cuidado, se obtienen mejores resultados en su proceso.

Para ello, es preciso que esté informado y que se establezca una buena comunicación entre usted y los profesionales sanitarios.

El contenido de este folleto pretende informarle de una de las iniciativas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que aborda la seguridad quirúrgica como una prioridad de salud pública.

La iniciativa "Cirugía segura salva vidas" tiene como herramienta el Listado de Verificación de Seguridad Quirúrgica.

El objetivo del Listado es mejorar la seguridad en las intervenciones quirúrgicas.

El Listado consta de un conjunto de controles de seguridad para realizar en el quirófano, con el objetivo de conseguir una cirugía segura.

¿Qué es cirugía segura?
La realizada en el lugar anatómico correcto, tras haber sido identificado el paciente, y comprobado, tanto el procedimiento a realizar como que se dispone de los medios adecuados para el tipo de intervención, y que el equipo está preparado para afrontar los eventos esperables durante el mismo y en el periodo postoperatorio".

La primera parte del Listado (denominada ENTRADA), consta de unas preguntas que le harán a usted cuando entre en el área quirúrgica.

Estas preguntas son:

- Su nombre.
- El tipo de intervención que le van a realizar.
- La localización anatómica de la intervención.
- Si ha firmado el consentimiento informado.

Queremos hacerle participe, implicándolo de forma activa en su proceso asistencial.

Figura 2. Folleto informativo Cirugía Segura Salva Vidas.

Esta actividad busca un doble objetivo, informar al usuario de la utilidad del listado y promover la participación activa de los pacientes en su propio proceso asistencial y en la seguridad en el ámbito quirúrgico, estimulando el espíritu participativo del paciente e induciendo al profesional sanitario a desarrollar la actividad asistencial en un ámbito seguro.

Las variables utilizadas en el análisis fueron:

1. Observación directa: Se valoró como correcta cuando el momento de realización fue adecuado y todos los ítems del LVQ se rellenaron al preguntarlo en voz alta.

2. Presencia del listado en la historia clínica de los pacientes intervenidos.

3. Datos obtenidos de las rondas de evaluación: Se sigue el procedimiento en la ronda o no, y si no se sigue, si se hace recomendación para mejorar la metodología del listado.

4. Cumplimentación en los cuatro apartados diferenciados de la encuesta de percepción del listado.

5. Barreras detectadas

Los datos se analizaron mediante estudio estadístico para las variables de interés. En la variable de observación directa se obtuvieron los intervalos de confianza al 95% del cumplimiento de este ítem. Para el resto de variables, excepto en el caso de las barreras, se ha calculado el porcentaje de incidencia contrastando el crecimiento en el periodo considerado a través de un test no paramétrico de proporciones.

Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 19.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EEUU).

RESULTADOS

I. Previos a la experiencia. De los datos de la observación directa, destaca que el *índice de Kappa* fue de 0,59 (fuerza moderada de concordancia). Se efectuaron un total de 96 observaciones directas (de un marco muestral de 135 intervenciones), obteniéndose un cumplimiento del 55,2% en la entrada ($IC \pm 8,4$), un 26,1% ($IC \pm 8,7$) en la pausa y un 23% ($IC \pm 8,4$) en la salida, con una fiabilidad del 95%.

II. Resultados derivados de las actividades del Plan de Acción:

Los datos de presencia del listado en la historia clínica (figura 3) reflejan una mejora en el nivel de cumplimiento respecto a las mediciones iniciales. Tras realizar un contraste para la diferencia de proporciones, se observa que esta diferencia es estadísticamente significativa al ser p-valor asociado al contraste muy pequeño, prácticamente nulo.

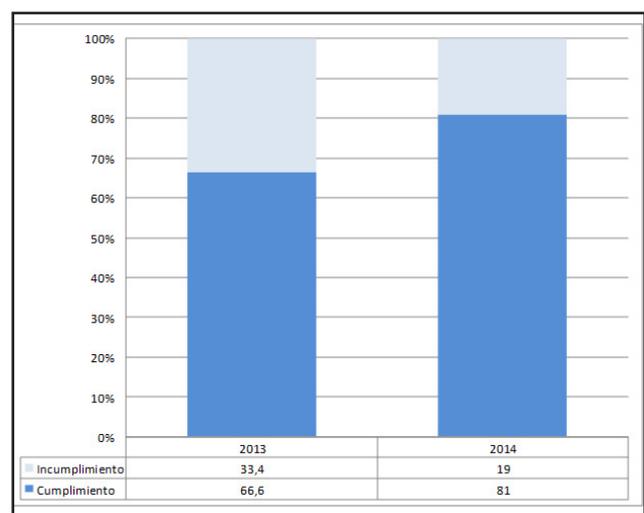


Figura 3. Porcentaje de intervenciones en las que se ha implementado el listado. gía Segura Salva Vidas.

Durante 2015 se hicieron 66 rondas de evaluación. Se cumplía la metodología del listado en 68,2% y en 32,8% que no se cumplía se hizo recomendación. En la mayoría de las ocasiones en las que no se cumplimentaba correctamente el listado, se hacían las preguntas verbalmente y se rellenaba después.

La encuesta se entregó a 190 profesionales del área quirúrgica (figura 4). La tasa de respuesta fue del 48% (92 encuestas). La opinión del profesional sobre la utilidad del listado es positiva (puntuación igual o superior a 3) en 73 de los casos (79,8%). En el apartado de dificultades derivadas de la utilización del listado, 58 casos (51,8%) consideran que es difícil de aplicar en las intervenciones de urgencias, 55 (59,5%) que es difícil para un enfermero gestionar el listado y 47 (51,2%) creen que el intercambio de información en voz alta entre los diferentes profesionales implicados es difícil de obtener. A la pregunta sobre si el listado ha ayudado a identificar e interceptar eventos portadores de riesgos (errores de identificación, sitio quirúrgico, olvido de material y error de material implantado) han respondido afirmativamente 23 encuestados (25,6%).

Del análisis de barreras destaca el sobre-registro, falta de liderazgo del gestor del listado, escasa implicación de los facultativos y ausencia de trabajo en equipo.

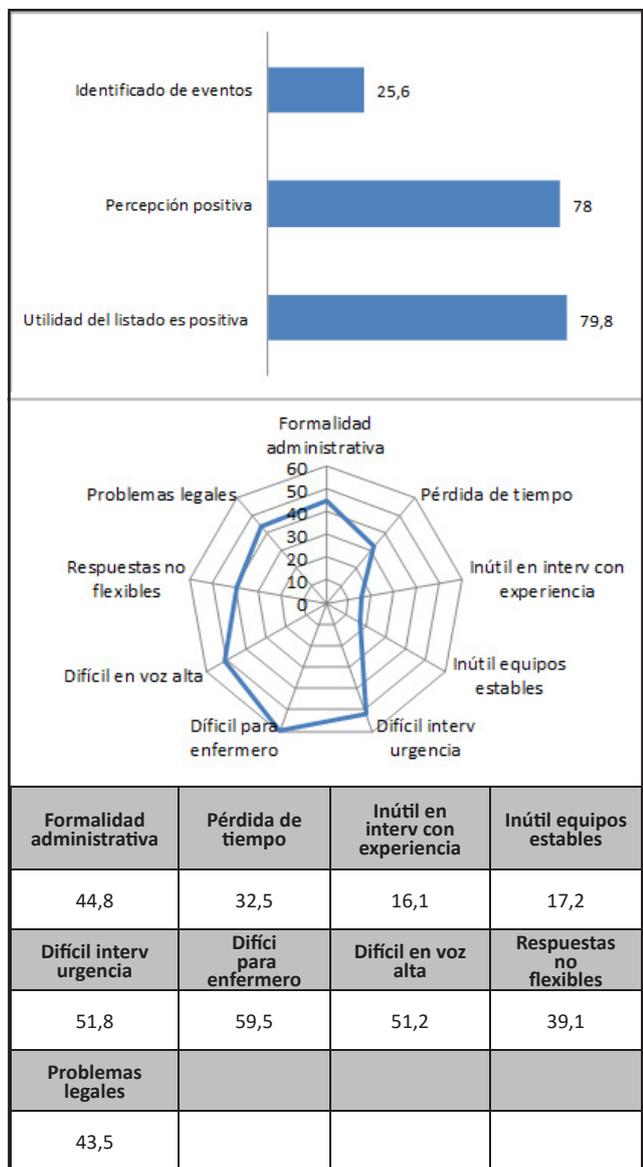


Figura 4. Resultados de la encuesta de percepción.

DISCUSIÓN

La implantación del LVQ en nuestro centro se inició en 2009, encontrando barreras desde el principio. Esta respuesta coincidió con la de otros hospitales, como pudieron comprobar Soria et al. en su estudio sobre las dificultades en la implantación del listado en los quirófanos de la Región de Murcia (3). Estas dificultades han sido reconocidas, en centros nacionales e internacionales, como un factor limitante en la aplicación del listado de verificación (4) (5). La participación del hospital en el proyecto PaSQ-WP5/Listado de verificación quirúrgica nos ha brindado la oportunidad de compartir e intercambiar información y experiencias con otros centros. En los últimos años ha aumentado considerablemente la actividad quirúrgica en España, lo que ha supuesto un cambio en buena parte de los procesos asistenciales. La introducción de nuevas técnicas, aunque menos invasivas, siguen siendo causa de eventos adversos. Aunque simultáneamente a la evolución técnica han ido surgiendo prácticas dirigidas a garantizar las condiciones adecuadas de calidad y seguridad, como es el caso del LVQ (6,7), parece que es más fácil el aprendizaje de técnicas complejas que cambiar actitudes.

En este sentido, el uso del LVQ implica cambios tanto en los sistemas como en el comportamiento de los equipos quirúrgicos (8); y si su objetivo es la optimización de la seguridad, se requieren intervenciones educativas y en la conciencia de seguridad de los profesionales sanitarios para mejorar la utilización efectiva del LVQ (3, 4). La apreciación de que el listado es un instrumento de control administrativo, como una norma impuesta, a pesar de la participación en la elaboración del procedimiento de numerosos profesionales quirúrgicos, ha supuesto un rechazo que deberemos salvar a base de potenciar actitudes seguras de los protagonistas, profesionales y pacientes. No se trata de imponer el uso obligatorio del listado, sino de convencer de que su cumplimiento reduce la posibilidad de eventos adversos evitables. Además, los esfuerzos necesarios para hacerlo operativo varían considerablemente por hospital y según las características de la intervención (3). Nuestros datos muestran que la percepción de los profesionales hacia el listado es positiva, como en el análisis de Rodrigo Rincón et al. (9), lo que nos lleva a pensar que debería ser aceptado como una práctica segura.

En la identificación de barreras, y al igual que en otros estudios, encontramos que la falta de liderazgo, el consumo de tiempo en su cumplimentación sin un beneficio percibido, la dificultad en la identificación de la responsabilidad de cada profesional y la escasa comunicación y ausencia de trabajo en equipo, son los factores que condicionan nuestra situación actual (5). Muchas de las barreras identificadas para el éxito de la implementación del LVQ dependen de la organización y factores culturales de cada centro (5). No obstante, la percepción global de la utilidad del LVQ en nuestro caso fue positiva para cerca del 80% de los encuestados, lo cual refleja una actitud favorable para continuar mejorando su implantación.

En el estudio de Haynes (8), la implantación del LVQ se asoció con una reducción significativa de las tasas de complicaciones y mortalidad asociados a la cirugía. No obstante, otros estudios no han encontrado una disminución significativa de la morbimortalidad y sugieren que es posible que el LVQ sea menos efectivo en la práctica que como se sugería en la literatura previamente (10). En nuestra experiencia no hemos valorado la repercusión en la morbi-mortalidad quirúrgica, ni si incrementa los gastos hospitalarios o alarga el tiempo de la intervención, lo que constituye una limitación en nuestro estudio. Todos los esfuerzos han sido dirigidos a intentar mejorar la implementación de esta práctica, aunque lo tenemos previsto en un futuro inmediato.

No obstante, la finalidad de esta iniciativa, mejorar la seguridad del paciente al intentar reducir los eventos adversos evitables, justifica el esfuerzo empleado en optimizar la implementación del listado. Es más, de forma análoga a los resultados de Fourcade et al. (5), creemos que nuestros hallazgos y los derivados del proyecto PaSQ tienen implicaciones relevantes para el diseño, uso y valoración del LVQ por parte de las autoridades nacionales de salud. Igualmente, una mejora en la utilización del listado es

posible y debería ser considerado un objetivo a conseguir por parte de programas de gestión de calidad de los centros (3).

CONCLUSIÓN

El Listado de Verificación Quirúrgica es una herramienta efectiva a la hora de mejorar la seguridad del paciente quirúrgico, que puede implantarse en las Áreas Quirúrgicas de cualquier hospital, aunque supone establecer una nueva dinámica y asunción de roles de los distintos profesionales involucrados en la realización del mismo. Las cotas de implantación alcanzadas en nuestra institución son notables pero hay aun margen para mejorar su cumplimentación. Como se ha demostrado, hacerlo obligatorio no es suficiente.

Estamos convencidos de que la implicación de los profesionales en el análisis de los problemas de implantación del LVQ, la adopción de medidas para su uso correcto, la puesta en común de las dificultades y el entrenamiento y trabajo en equipo junto con la implicación de los profesionales y los pacientes, como herramientas para vencer las barreras, redundarán en un descenso de las complicaciones quirúrgicas y en una mejora de la calidad asistencial hasta alcanzar lo que la OMS definió como cirugía segura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Segundo reto mundial por la seguridad del paciente: la cirugía segura salva vidas [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2008. [acceso 6 de noviembre de 20015]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70084/1/WHO_IER_PSP_2008.07_spa.pdf.
2. Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, Grupo de Trabajo de la Guía de Práctica Clínica para la Seguridad del Paciente Quirúrgico. Guía de práctica clínica para la seguridad del paciente quirúrgico [Internet]. Madrid: Ministerio de Ciencia e Innovación; 2010 [acceso 6 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.guiasalud.es/GPC/GPC_478_Seguridad_Paciente_AIAQS_compl.pdf
3. Soria Aledo V, Silva Gama ZA, Saturno PJ, Grau-Polan M, Carrillo Alcaraz A. Dificultades en la implantación del check list en los quirófanos de cirugía. *Cir Esp* 2011; 90: 180-85.
4. Sivathanan N, Rakowski KRM, Robertson BFM, Vijayarajan L. The World Health Organization's 'Surgical Safety Checklist': should evidence-based initiatives be enforced in hospital policy?. *JRMS Short Rep* 2010; 1: 40.
5. Fourcade A, Blache JL, Grenier C, Bourgain JL, Minvielle E. Barriers to staff adoption of a surgical safety checklist *BMJ Qual Saf* 2012; 21: 191-7.
6. Portella E, Carrillo E, Ubago B, Roé D, Cañellas V, Sopeña L. Libro blanco de la actividad y gestión del Bloque Quirúrgico en España [Internet]. Madrid: Antares consulting; 2015 [acceso 6 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.redaccionmedica.com/contenido/images/GE%20Healthcare_LibroBlanco_LIGHT.pdf
7. Colomer Mascaró J, Arias Díaz J, Barturen Fernández F, García Caballero J, Gómez Arnau JI, González Arevalo A. Bloque quirúrgico. Estándares y recomendaciones [Internet]. Madrid: Ministerio de Sanidad y Política Social; 2010 [acceso 6 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/docs/BQ.pdf>
8. Haynes AB, Weiser TG, Berry WR, Lipsitz SR, Breizat AH, Dellinger EP, et al. A surgical safety checklist to reduce morbidity and mortality in a global population. *N Engl J Med*. 2009;360: 491-9.
9. Rodrigo Rincón MI, Tirapu León B, Zabalza López P, Martín Vizcaino MP, Fuente Calixto A de la, Villalgorido Ortín P et al. Percepción de los profesionales sobre la utilización y la utilidad del listado de verificación quirúrgica. *Rev Calid Asist* 2011; 26: 380-385.
10. Urbach DR, Govindarajan A, Saskin R, Wilton AS, Baxter NN. Introduction of surgical safety checklists in Ontario, Canada. *N Engl J Med*. 2014;370: 1029-38.

Optimización del cultivo de queratinocitos humanos para el desarrollo de un modelo de piel artificial humana: alternativas celulares como capa alimentadora

Optimization of human keratinocyte culture to develop an artificial human skin model: cell alternatives as feeder layer of Advanced Therapies

Ana Fernández González^{1,3}, Antonio Manuel Lizana Moreno^{1,3}, María del Mar de Pablos Ramos^{1,3}, Antonio Ruiz García^{1,2,3}, Olga Espinosa Ibáñez^{1,3}, Natividad Fernández Porcel^{1,2,3}, Jorge Guerrero Calvo^{1,2,3}, Miguel Arrabal⁴, López-Carmona F.⁴, Salvador Arias-Santiago^{1,3}

¹ Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs. GRANADA. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada, Spain

² ECAI Unidad de Calidad de la Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada, Spain

³ Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas

⁴ Unidad de Gestión Clínica de Urología. Complejo Hospitalario Universitario de Granada.

Resumen

Objetivos: En el presente estudio se persigue optimizar el cultivo de queratinocitos para desarrollar un modelo de piel artificial humana. Para ello, se utilizan como capa alimentadora células de origen humano: fibroblastos dérmicos humanos y células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo. Los resultados obtenidos se comparan con los fibroblastos 3T3, capa alimentadora de origen murino utilizada desde hace décadas.

Metodología: Se llevó a cabo un estudio experimental, utilizando células de origen humano y células de origen murino subletalmente irradiadas, como capa alimentadora para el establecimiento del cultivo de queratinocitos. Se evaluó la tasa de expansión celular y la tasa de duplicación en el pase celular de queratinocitos y en la recuperación celular final que se llevó a cabo a las 3 semanas de cultivo; así como el rendimiento celular y la viabilidad celular, que también se evaluaron en el procesamiento inicial.

Resultados: Los resultados determinan que los fibroblastos dérmicos humanos irradiados y las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo pueden actuar como capa alimentadora promoviendo la adhesión y la expansión celular de los queratinocitos. Los fibroblastos dérmicos humanos proporcionan resultados equiparables a los obtenidos con los fibroblastos 3T3 murinos.

Conclusiones: Los fibroblastos dérmicos humanos irradiados proporcionan una capa alimentadora funcional que permite la expansión in vitro de manera eficaz de los queratinocitos que se van a utilizar con fines clínicos para el desarrollo de un modelo de piel artificial humana.

Abstract

Purpose: This study aims to optimize keratinocyte culture to develop an artificial human skin model. For this purpose, human cells are used as feeder layer: human dermal fibroblasts and adipose derived mesenchymal stem cells. The results obtained are compared with 3T3 fibroblasts, murine feeder layer used for decades.

Methods: We conducted an experimental study using human and murine sub-lethally irradiated cells as feeder layer for the establishment of keratinocyte culture. Cell expansion rate and doubling rate were evaluated in the keratinocyte cell passage and in the final cell recovery (was carried out at 3 weeks). The yield and viability of keratinocytes were also evaluated in the initial processing.

Results: The results determine that irradiated human dermal fibroblasts and irradiated adipose derived mesenchymal stem cells can act as feeder layer promoting adhesion and expansion of keratinocytes. Human dermal fibroblasts provide comparable results to those obtained with murine 3T3 fibroblasts.

Conclusions: Irradiated human dermal fibroblasts provide a functional feeder layer which allows effectively in vitro expansion of keratinocytes to be used for clinical purposes for the development of an artificial human skin model.

Palabras clave: Piel artificial, Queratinocitos, Capa alimentadora, Fibroblastos 3T3, Fibroblastos dérmicos humanos, Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo

Keywords: Artificial skin, Keratinocytes, Feeder layer, 3T3 fibroblasts, Human dermal fibroblasts, Adipose derived mesenchymal stem cells

INTRODUCCIÓN:

La ingeniería tisular (1)(2) constituye un conjunto de técnicas y métodos que permiten diseñar y generar en el laboratorio sustitutos tisulares, tejidos artificiales o constructos de origen autólogo o alogénico a partir de células madre y biomateriales.

La piel (3) (4), es el mayor órgano funcional del cuerpo humano; cubre un área de 1,5 a 2 metros cuadrados en un adulto medio. La piel sana representa una barrera contra agresiones mecánicas, químicas, tóxicas, calor, frío, radiaciones UV y microorganismos patógenos. Además, la piel es esencial para el mantenimiento del equilibrio de fluidos corporales, el mantenimiento del equilibrio térmico y la transmisión de una gran cantidad de información externa que accede al organismo por el tacto, la presión, la temperatura y los receptores del dolor (5).

Desde fuera hacia dentro (6), se distinguen tres capas de tejido: epidermis, dermis e hipodermis. La epidermis (7) es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que cubre la totalidad de la superficie corporal. Es la capa de la piel con mayor número de células y con una dinámica de recambio extraordinariamente grande. El componente celular más importante de la epidermis son los queratinocitos, que se distribuyen en varios estratos (basal, espinoso, granuloso y córneo) y que tienen capacidad para sintetizar queratina, proteína filamentosa con una función protectora.

La piel humana puede estar afectada por múltiples patologías y las lesiones pueden ser congénitas, traumáticas, inflamatorias o infecciosas. Por lo tanto, el desarrollo de un sustituto eficiente de piel humana es uno de los principales desafíos que enfrenta la ingeniería de tejidos.

Para generar un modelo de piel humana artificial (8)(9) (10), es necesario desarrollar un sustituto de estroma dérmico con fibroblastos humanos inmersos en su interior (11) y posteriormente, cultivar los queratinocitos en la parte superior (12)(13).

El principal limitante en el desarrollo de un modelo de piel humana autóloga para el tratamiento de quemaduras de gran extensión (14), es la obtención de un gran número de queratinocitos que formen parte de la capa epitelial.

Para la expansión de queratinocitos es necesario la utilización de células alimentadoras que actúen como *feeder*. Para su uso, la capacidad proliferativa de estas células debe ser inhibida por radiación. Sin embargo, estas células mantienen su actividad metabólica, produciendo los factores de crecimiento requeridos por los queratinocitos; siendo la función de esta capa alimentadora actuar como un soporte celular *in vitro*.

En el año 1975, Rheinwald y Green (15) establecieron el método estándar para la expansión de los queratinocitos humanos primarios en cultivo, mediante el uso de un *feeder* de fibroblastos 3T3 de ratón irradiados letalmente, que estimulan la adhesión y la proliferación de los queratinocitos.

La elección de una capa alimentadora de fibroblastos se presenta como la mejor opción para la expansión a gran escala de los queratinocitos de piel autóloga que se va a utilizar para el tratamiento de pacientes con quemaduras graves. En un contexto clínico, el uso de células de origen humano en lugar de una capa alimentadora de origen murino es necesaria para reducir el riesgo de introducir antígenos animales y virus desconocidos.

El objetivo de este trabajo, es comparar el rendimiento a tres semanas de tres líneas celulares que actúan como capa alimentadora en el cultivo de queratinocitos: los fibroblastos murinos 3T3, los fibroblastos dérmicos humanos y las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo.

METODOLOGÍA:

1. Obtención de células utilizadas como capa alimentadora: *feeder*

1.1 Fibroblastos 3T3 de origen murino:

Se utilizaron dos líneas celulares de fibroblastos 3T3 de origen murino, una perteneciente a la colección Europea (3T3 Swiss Albino, Sigma, Ref. 85022108-1V, Lote CB2657) y otra de la colección Americana (3T3 Swiss Albino, ATCC, CCL-92, 60770553) adquiridas por la Unidad de Producción Celular e Ingeniería Tisular (UPCIT) del Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Ambas líneas de fibroblastos 3T3 se descongelaron y se expandieron con medio de cultivo específico para el cultivo de fibroblastos (MF): DMEM sin Rojo Fenol (Sigma), 10% Suero Fetal Bovino (Sigma), 1% de Glutamina 200 mM (Sigma) y Gentamicina 96 µg/ml (Normon). Se estableció un banco celular maestro (BCM) y un banco celular de trabajo (BCT).

1.2 Fibroblastos dérmicos humanos (FH):

Los fibroblastos dérmicos humanos (FH) se obtuvieron a partir de tejido dérmico de piel abdominal, sobrante de cirugías plásticas abdominales previo consentimiento informado del paciente en cumplimiento de los requisitos de donación de células y tejidos humanos (Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de Julio). El tejido se procesó mecánicamente con ayuda de bisturí y pinzas, posteriormente se incubó en una solución de 2 mg/ml de colagenasa tipo I (Gibco) durante 18-24 horas. Transcurrido el tiempo de digestión enzimática, se neutralizó con el doble de volumen de MF y se filtró a través de un filtro estéril de 100 µm. La solución resultante, se centrifugó a 300g durante 10 minutos. Mediante la solución de Türk (Sigma) se determinó el número de células, y la viabilidad celular se estableció utilizando el método Azul Tripán (Sigma). Las células se sembraron a una densidad de 100.000-140.000 células/cm² con medio MF.

1.3 Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC):

Las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) se obtuvieron de tejido adiposo sobrante de cirugías plásticas abdominales a través del Biobanco del Sistema Público Andaluz previo consentimiento informado del paciente en cumplimiento de los requisitos de donación de células y tejidos humanos (Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de Julio). El tejido adiposo se procesó mecánicamente con ayuda de bisturí y pinzas, posteriormente se pasó por un molinillo estéril, se incubó en una solución de 2 mg/ml de colagenasa A (Roche) durante 2 horas en agitación. Después de la digestión enzimática, la solución de digestión se neutralizó con el doble de volumen de MF, se centrifugó a 300g durante 10 minutos y se filtró a través de una malla de 100 µm. La solución filtrada, se centrifugó a 800g durante 10 minutos. El conteo celular se realizó mediante la solución de Türk (Sigma) y la viabilidad celular se determinó utilizando el método Azul Tripán (Sigma). Las células se sembraron a una densidad de 100.000 células/cm² con medio MF.

2. Mantenimiento de *feeder* en cultivo

Las células que actuaron como *feeder* se mantuvieron en cultivo durante el proceso completo de expansión de queratinocitos, trabajando en superficies comprendidas entre frasco de cultivo T25 (25 cm²) hasta factoría de 4 pisos (2520 cm²), bajo condiciones estándar de cultivo: 37°C, 5% de CO₂. El pase celular se estableció al alcanzar las células en cultivo una confluencia superior al 80%. Para el despegue celular se retiró el medio de cultivo MF, se realizó un lavado con DPBS y posteriormente se incubó con TrypLE Select 1X (Gibco) en proporción 1ml por cada 25 cm² de superficie de cultivo. La solución se neutralizó con el doble de volumen de MF, se centrifugó a 800g y se realizó el conteo de células totales y viabilidad celular mediante el método Azul Tripán, respectivamente. Las células obtenidas se sembraron a una densidad de 2500-5000 células por cm² con medio MF.

3. Proceso de irradiación

Las células utilizadas como capa alimentadora se irradian subletalmente.

El proceso de recuperación celular para irradiación se ha detallado en el apartado anterior. Las células recuperadas se concentraron a 4.000.000 células/ml y se depositaron en un tubo estéril de 50 ml sellado con parafilm. El tubo estéril se depositó en el interior de un tubo cónico de 500 ml sumergido completamente en agua, se colocó en una nevera refrigerada 2-8°C y se transportó al Servicio de Medicina Nuclear del Complejo Hospitalario Universitario de Granada. El tubo estéril de 50 ml que contenía las células se situó en un contenedor metálico específico relleno de agua en posición vertical a una distancia de 195 mm de la fuente de radiación. La dosis de radiación fue 50 Gy durante 28 minutos en las líneas 3T3 y FH, salvo la línea ADMSC que fue irradiada a 50 Gy y 100 Gy en dos pruebas diferentes (Tabla 1). El equipo empleado fue una unidad de irradiación por rayos gamma BIOBEAM 8000 con una fuente de Cs-137 de 2000 Ci.

Transcurrido el tiempo de irradiación, las células se transportaron a la UPCIT en nevera refrigerada 2-8°C. Se centrifugaron a 800g, para realizar el conteo de células y determinar la viabilidad celular con el método Azul Tripán, para la posterior siembra de cada *feeder*.

4. Densidad de siembra como *feeder*

Las células utilizadas como capa alimentadora previamente irradiadas: fibroblastos 3T3 irradiados (3T3i), fibroblastos dérmicos humanos irradiados (FHi) y las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo irradiadas (ADMSci) se sembraron a diferentes concentraciones de siembra el día previo a la obtención de Queratinocitos (QT). (Tabla 1)

Las cuatro líneas celulares se sembraron en un frasco T75 (75 cm²) previo a la obtención de queratinocitos durante el procesamiento inicial F0. En el pase celular F1, se sembraron en frascos T225 (225 cm²) pero siempre manteniendo la densidad de siembra establecida.

Los frascos que contenían la capa alimentadora se mantuvieron en condiciones estándar de cultivo hasta el día siguiente

te que se realizó la siembra de los queratinocitos obtenidos tras el procesamiento inicial del tejido abdominal o durante el pase celular F1.

5. Procesamiento inicial de piel abdominal: obtención de queratinocitos (QT) primarios

Los queratinocitos (QT) se obtuvieron a partir de piel abdominal y circuncisiones a través del Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz y el Servicio de Urología del Complejo Hospitalario Universitario de Granada, respectivamente; previo consentimiento informado del paciente en cumplimiento de los requisitos de donación de células y tejidos humanos (Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de Julio).

Las muestras de piel abdominal de 9 cm² de tamaño se transportaron en DPBS desde el quirófano al laboratorio para el inicio de su procesamiento. En cabina de flujo laminar, se mantuvieron en solución de lavado (gentamicina 160 µg/ml, vancomicina 20 µg/ml, penicilina 600.000 UI, anfotericina B 1,25 µg/ml en DPBS) durante 30 minutos. Posteriormente, con ayuda de bisturí y pinzas se separó la dermis de la epidermis. La epidermis se trituró con ayuda de tijeras y se depositó en un tubo estéril de 50 ml que contenía 10 ml de TrypLE Select 10X (Gibco) para su digestión enzimática. La digestión se promovió mediante agitación durante 15 minutos, aplicando cada 5 minutos una agitación manual y así completar un ciclo de digestión. Este mecanismo se realiza durante 9 ciclos más, en los cuales el volumen de TrypLE Select 10X aplicado a la muestra de epidermis será de 5 ml. Al final de cada ciclo se filtra el contenido del tubo a través de una malla de 100 µm y se neutraliza la enzima con el doble de volumen de medio específico para el cultivo de queratinocitos (MQT): DMEM sin rojo fenol (Sigma), 30% HAM F-12 (Sigma), 10% suero fetal bovino (Sigma), 1% L-glutamina 200 mM (Sigma), triyodo tironina sódica 20 µg/ml (Sigma), hidrocortisona 0,4 µg/ml (Sigma), clorhidrato de adenina 24 µg/ml (Sigma), factor de crecimiento epidérmico 10 µg/ml (Sigma), insulina 5 µg/ml (Sigma), gentamicina 96 µg/ml (Normon) y Anfotericina (Sigma). Después de los 10 ciclos totales, se desecha el tejido, la suspensión celular se centrifuga a 300g, se desecha el sobrenadante y se añade MQT para la realización del conteo celular mediante la solución de Türk y la determinación de la viabilidad celular mediante el método Azul Tripán. El número total de células obtenidas se sembró en cada frasco T75 sembrado previamente con su *feeder* irradiado el día anterior.

	PROCESAMIENTO INICIAL F0		PASE CELULAR F1	
	Densidad de siembra F0	Dosis de irradiación F0	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1
Fibroblastos 3T3 (Sigma)	80.000 cél./cm ²	50 Gy	80.000 cél./cm ²	50 Gy
Fibroblastos 3T3 (ATCC)	40.000 cél./cm ²	50 Gy	10.000 cél./cm ²	50 Gy
Fibroblastos dérmicos humanos (FH)	10.000 cél./cm ²	50 Gy	10.000 cél./cm ²	50 Gy
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo	10.000 cél./cm ²	100 Gy	10.000 cél./cm ²	100 Gy
	10.000 cél./cm ²	50 Gy	10.000 cél./cm ²	50 Gy

Tabla 1. Tipos celulares utilizados como capa alimentadora de queratinocitos. Dosis de irradiación y densidad de siembra en el procesamiento inicial y en el pase celular.

6. Mantenimiento en cultivo de queratinocitos

Se realiza el seguimiento del cultivo a través de microscopio óptico invertido visualizando la morfología y el estado del cultivo, hasta que alcance el 80% de confluencia y se realice el pase celular. Durante el tiempo de mantenimiento, cada 48-72 horas se realiza un cambio de MQT, se desecha el medio de cultivo del frasco y se añade de nuevo MQT atemperado a 37°C. Es posible observar alguna colonia de fibroblastos procedente del procesamiento inicial del tejido, que será eliminada aplicando una tripsina rápida de 1-2 minutos con Tryple Select 1X en un volumen de 1 ml por cada 25 cm², posteriormente se neutraliza con medio de cultivo y se desecha, para de nuevo añadir MQT al frasco. El frasco se mantiene en el incubador en condiciones estándar de cultivo: 37°C y 5% CO₂.

7. Pase celular de queratinocitos

Una vez alcanzada una confluencia superior al 80% se realiza el pase celular. El frasco de cultivo de QT se lava con DPBS para realizar una tripsinización rápida y así poder eliminar cualquier resto de *feeder* que quede en el frasco. Después de la tripsinización rápida, se añade TrypLE Select 1X en un volumen de 1 ml por cada 25 cm² lavando el frasco, desechándolo y posteriormente se vuelve aplicar este volumen de TrypLE Select 1X dejándolo actuar de 15-30 minutos en el incubador de CO₂. Las células despegadas del frasco, se neutralizan con el doble de volumen de MQT. La suspensión se recupera en un tubo estéril de 50 ml, se centrifuga a 500g. Se determina el número celular y la viabilidad celular con el método Azul Tripán. El número de queratinocitos obtenidos se siembra en frascos de cultivo T225, la superficie de cultivo se encuentra cubierta desde el día anterior con el *feeder* irradiado. La densidad de siembra de los queratinocitos es de 5000-10000 células/cm². Trasladamos los frascos al incubador de CO₂ para el posterior mantenimiento de los QT en cultivo, con cambios de medio cada 48-72 horas.

8. Recuperación final de queratinocitos

A las tres semanas de cultivo de QT se realiza la recuperación final. Para ello los frascos T225 se lavan con DPBS, se realiza una tripsina rápida con TrypLE Select 1X y posteriormente se incuba con TrypLE Select 1X, en volumen de 1 ml cada 25 cm², dejándolo actuar entre 15-30 minutos en el incubador de CO₂. Cuando se observa que los queratinocitos se han despegado del frasco, se realiza una neutralización con MQT al doble de volumen. La suspensión celular se deposita en un falcon de 50 ml y se centrifuga a 500g, posteriormente se realiza el conteo total de células y la viabilidad celular con el método de Azul Tripán.

9. Determinación de las variables de estudio

9.1 Número de células y porcentaje de viabilidad celular

La cuantificación de las suspensiones celulares obtenidas, se realizó utilizando un hemocitómetro (cámara de Neubauer) y aplicando el método Azul Tripán. De los pellets de células resuspendidos en un volumen de medio de cultivo conocido, se tomó una alícuota de 10 µl en un microtubo eppendorf de 0,5 ml. A continuación se añadió un volumen conocido de Azul Tripán, se homogeneizó bien la suspensión. Se colocó un cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer, y se cargó 10 µl en la parte superior y 10 µl en la parte inferior. La observación de la cámara se realizó bajo microscopio óptico invertido. Para cada muestra se contaron los 8 campos de la cámara, obviando las células que se encontraban en los bordes internos de cada cuadrante.

Se utilizó el método Azul Tripán para la diferenciación de células vivas y muertas. Se trata de un colorante que no penetra en las células viables, que al tener su membrana intacta, se ven como refringentes, y las células muertas se observan de color azul porque el colorante entra a través de su membrana dañada.

La solución de Türk se utilizó para la tinción de células mononucleadas, y determinar las células viables en el procesamiento inicial para la obtención de FH, ADMSC y QT.

El número total de células viables existentes en la suspensión celular original fue determinado usando la siguiente fórmula:

$N = n/8 \times FD \times \text{Volumen de resuspensión} \times 10^4$
N = Número de células totales
n = Número de células contadas en toda la cámara
8 = Número de cuadrantes
FD = Factor de dilución (número de veces que la muestra es diluida en Azul Tripán)
Volumen de resuspensión = Volumen total en el cual el pellet es resuspendido
10 ⁴ = Factor de corrección, cálculo en ml, el volumen de muestra es 0,1 µl
Se determinó el porcentaje de viabilidad celular utilizando la misma preparación utilizada para el recuento celular, aplicando la siguiente fórmula:
$\% \text{ Viabilidad Celular} = [N^\circ \text{ Células vivas} / (N^\circ \text{ células vivas} + N^\circ \text{ células muertas})] \times 100$

9.2 Tasa de duplicación celular

La variable tasa de expansión celular se estimó en función del número de células obtenidas en relación al número de células sembradas, determinando el número de veces que la población celular se incrementa. La fórmula aplicada se resume a continuación:

Tasa expansión celular = N° Células obtenidas / N° células sembradas
De este modo, se obtiene la tasa de expansión celular F1, la tasa de expansión celular RF y la tasa de expansión celular total:
Tasa expansión celular F1 = Queratinocitos F1 / Queratinocitos F0
Tasa expansión celular RF = Queratinocitos RF / Queratinocitos F1
Tasa expansión celular total = Queratinocitos RF / Queratinocitos F0

9.3 Tasa de duplicación celular

En relación a la tasa de expansión celular, se pudo calcular la tasa de duplicación celular, para evaluar el número de veces que la población se duplicó en función del número de pases. Los resultados se expresaron como valores acumulados, aplicando la siguiente fórmula:

Tasa duplicación celular = $\log N / \log 2$
N = Tasa de expansión celular = N° Células obtenidas / N° células sembradas
De este modo, se obtiene la tasa de duplicación celular F1, la tasa de duplicación celular RF y la tasa de duplicación celular acumulada:
Tasa duplicación celular F1 = $\log (\text{Queratinocitos F1} / \text{Queratinocitos F0}) / \log 2$
Tasa duplicación celular RF = $\log (\text{Queratinocitos RF} / \text{Queratinocitos F1}) / \log 2$
Tasa duplicación celular acumulada = Tasa de duplicación celular F1 + Tasa de duplicación celular RF

10. Análisis de las variables de estudio

En cada una de las fases del cultivo celular de queratinocitos se analizaron todas las variables de estudio, a excepción del pro-

cesamiento inicial, donde no aplican la tasa de expansión celular y la tasa de duplicación celular (Tabla 2).

	PROCESAMIENTO INICIAL FO	PASE CELULAR F1	RECUPERACIÓN FINAL (RF)
Número de células	x	x	x
% de viabilidad	x	x	x
Tasa de expansión celular	N.A.	x	x
Tasa de duplicación celular	N.A.	x	x

Tabla 2. Variables de estudio durante las fases del cultivo celular de queratinocitos.

11. Análisis estadístico

La representación de los datos obtenidos se realizó como la media + error estándar de la media (EEM). Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico R (R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Se aplicó un modelo lineal generalizado para el desarrollo del análisis estadístico de los datos y se comprobó la distribución normal de los residuos. Sobre el modelo lineal, se realizó un análisis de varianza (ANalysis Of VAriance, ANOVA) factorial, para evaluar el efecto de cada factor presente, y se aplicó un ajuste *white adjust*. La variabilidad y la heterogeneidad características de los datos obtenidos a partir de muestras biológicas pueden generar el no cumplimiento de alguna de las asunciones del modelo, por lo que el ajuste se aplicó en todos los casos para asegurar la homocedasticidad en los residuos. Una vez realizada la ANOVA, se realizó un análisis post hoc con el test de *Tukey* para todos los factores y así evaluar el grado de significación al realizar una comparación entre las clases del factor. Los valores de $p \leq 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

RESULTADOS:

1. Número de células y porcentaje de viabilidad celular

El número de queratinocitos obtenidos en el procesamiento inicial mediante la solución de Türeck y en el pase celular mediante la técnica Azul Tripán, así como el porcentaje de viabilidad celular en todas las fases de cultivo, se detallan en la Tabla 3.

	PROCESAMIENTO INICIAL FO				PASE CELULAR F1				RECUPERACIÓN FINAL (RF)	
	Densidad de siembra FO	Dosis de irradiación FO	Queratinocitos FO	% de Viabilidad Celular FO	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1	Queratinocitos F1	% de Viabilidad Celular F1	Queratinocitos RF	% de Viabilidad Celular RF
Fibroblastos 3T3 (Sigma) n=3	80.000 cél./cm ²	50 Gy	3.601.092	84,2	80.000 cél./cm ²	50 Gy	6.252.833	92,1	85.190.833	94,2
Fibroblastos 3T3 (ATCC) n=3	40.000 cél./cm ²	50 Gy	3.382.388	85,7	10.000 cél./cm ²	50 Gy	12.883.750	90,6	101.136.417	94,4
Fibroblastos dérmicos humanos (FH) n=3	10.000 cél./cm ²	50 Gy	3.892.889	84,9	10.000 cél./cm ²	50 Gy	9.025.370	94,7	84.626.291	95,7

Tabla 3. Número de queratinocitos y porcentaje de viabilidad celular en cada fase de cultivo celular en función del tipo celular utilizado como capa alimentadora.

El número de queratinocitos obtenidos no varió significativamente ($p > 0,05$) en función del tipo celular utilizado como *feeder*. Para el análisis estadístico de los valores se aplicó el modelo lineal generalizado, y se comprobó que la distribución de residuos se ajustaba a una normal. A continuación, se realizó un análisis de varianza (ANalysis Of VAriance, ANOVA) unifactorial, sobre el modelo lineal generalizado identificando el nivel de significación y se llevó a cabo un análisis *post hoc* con el test de *Tukey* para la comparación entre los tipos celulares utilizados como capa alimentadora (Figura 1).

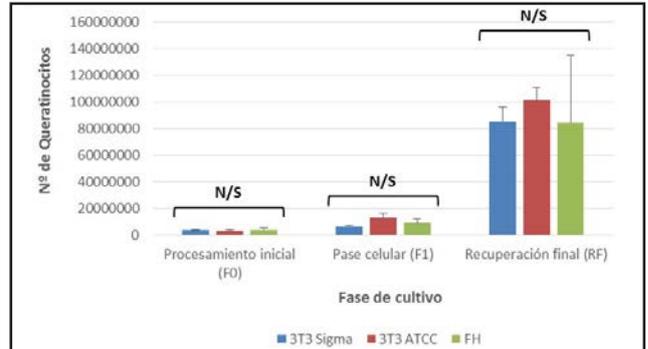


Figura 1. Número de queratinocitos obtenidos en cada fase de cultivo celular en función del tipo celular utilizado como *feeder*. N/S: No significación.

El porcentaje de viabilidad celular no varió significativamente ($p > 0,05$) en función del tipo celular utilizado como capa alimentadora para la expansión en cultivo de queratinocitos (Figura 2).

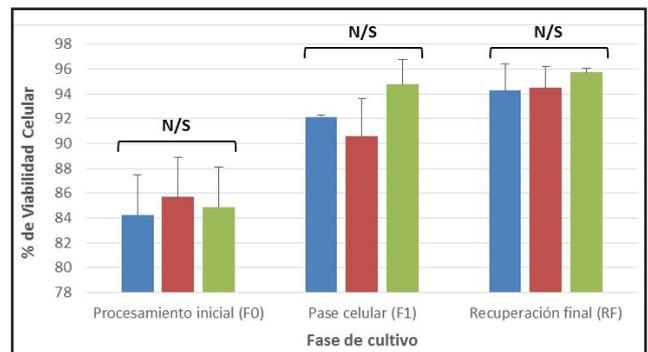


Figura 2. Porcentaje de viabilidad celular en función del tipo celular utilizado como capa alimentadora en cada fase de cultivo. N/S: No significación.

Los resultados obtenidos cuando se utilizaron las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como capa alimentadora para el cultivo de queratinocitos en función de la dosis de irradiación se reflejan en la Tabla 4.

El número de queratinocitos obtenidos en función de la dosis de irradiación de las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como *feeder* se representa en la Figura 3.

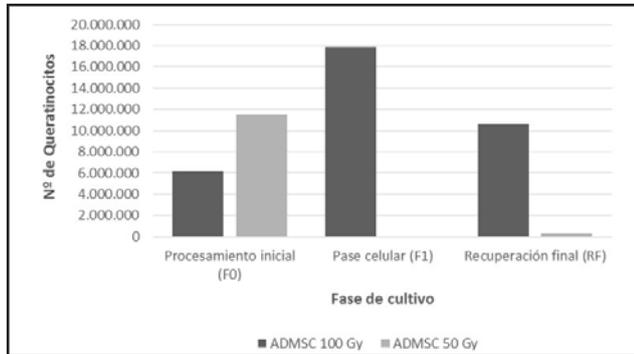


Figura 3. Número de queratinocitos obtenidos en cada fase de cultivo celular en función de la dosis de irradiación de la capa alimentadora de células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo.

El porcentaje de viabilidad celular en función de la dosis de irradiación de las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo utilizadas como capa alimentadora se representa en la Figura 4.

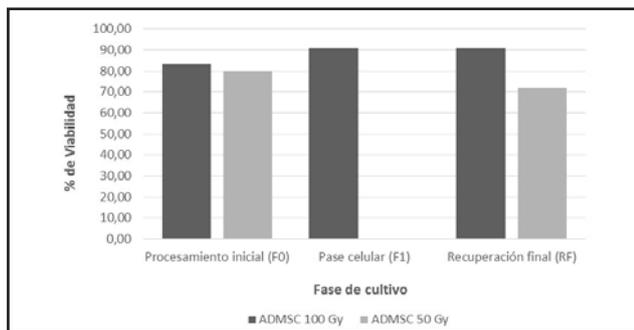


Figura 4. Porcentaje de viabilidad celular en cada fase de cultivo celular en función de la dosis de irradiación de la capa alimentadora de células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo.

2. Tasa de expansión celular

Los valores de la tasa de expansión celular alcanzados en el pase celular y en la recuperación final de queratinocitos, así como la tasa de expansión celular total al utilizar cada tipo de *feeder* se detallan en la Tabla 5.

La tasa de expansión celular de queratinocitos en el pase celular no varió significativamente ($p > 0,05$) en función del tipo celular utilizado como *feeder*. Tampoco se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la tasa de expansión celular en la recuperación final ni en la tasa de expansión celular total (Figura 5).

Los valores de la tasa de expansión celular de queratinocitos obtenidos al utilizar las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como capa alimentadora se recogen en la Tabla 6.

La tasa de expansión celular de queratinocitos en el pase celular y en la recuperación final solo pudo ser determinada cuando la dosis de irradiación de las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo fue 100 Gy. La tasa de expansión celu-

lar total fue menor de 1 cuando la dosis de irradiación fue 50 Gy (Figura 6).

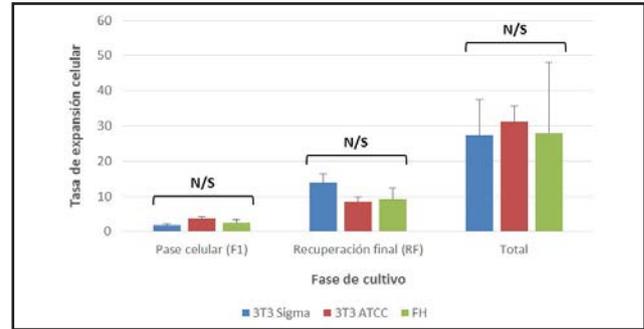


Figura 5. Tasa de expansión celular en el pase celular, en la recuperación final y total de queratinocitos en función de la capa alimentadora. N/S: No significación.

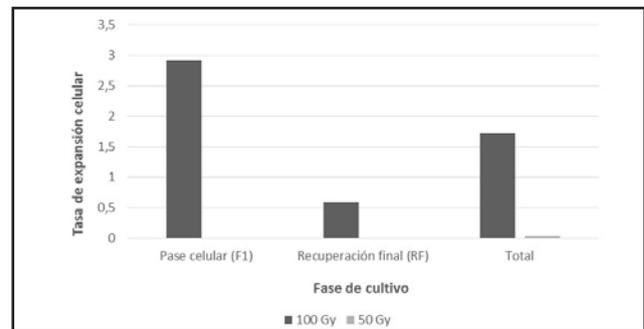


Figura 6. Tasa de expansión celular en el pase celular, en la recuperación final y total de queratinocitos en función de la dosis de irradiación de la capa alimentadora de células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo.

3. Tasa de duplicación celular

Los valores de tasa de duplicación celular alcanzados en el pase celular y en la recuperación final de queratinocitos, así como la tasa de duplicación celular acumulada al utilizar cada tipo de *feeder* se detallan en la Tabla 7.

La tasa de duplicación celular de queratinocitos en el pase celular no varió significativamente ($p > 0,05$) en función del tipo celular utilizado como *feeder*. Tampoco se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la tasa de duplicación celular en la recuperación final ni en la tasa de duplicación celular acumulada (Figura 7).

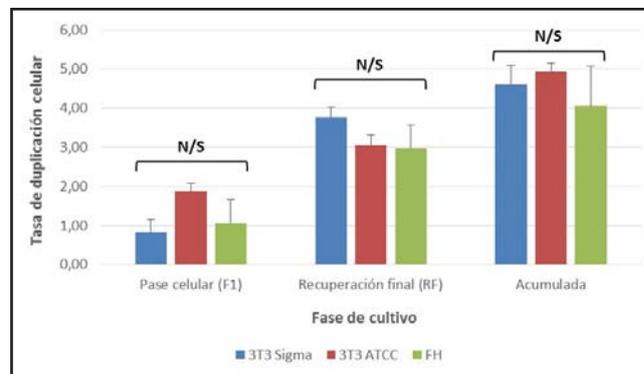


Figura 7. Tasa de duplicación celular en el pase celular, en la recuperación final y tasa de duplicación celular acumulada de queratinocitos en función de la capa alimentadora. N/S: No significación.

	PROCESAMIENTO INICIAL F0				PASE CELULAR F1				RECUPERACIÓN FINAL (RF)	
	Densidad de siembra F0	Dosis de irradiación F0	Queratinocitos F0	% de Viabilidad Celular F0	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1	Queratinocitos F1	% de Viabilidad Celular F1	Queratinocitos RF	% de Viabilidad Celular RF
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) n=1	10.000 cél./cm ²	100 Gy	6.123.000	83,0	10.000 cél./cm ²	100 Gy	17.878.500	91,0 %	10.582.500	91,0
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) n=1	10.000 cél./cm ²	50 Gy	11.520.000	80,0	10.000 cél./cm ²	50 Gy	-	-	330.000	72,0

Tabla 4. Número de queratinocitos y porcentaje de viabilidad celular en cada fase de cultivo celular utilizando células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como feeder.

	PROCESAMIENTO INICIAL F0			PASE CELULAR F1				RECUPERACIÓN FINAL (RF)		
	Densidad de siembra F0	Dosis de irradiación F0	Queratinocitos F0	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1	Queratinocitos F1	Tasa de Expansión Celular F1	Queratinocitos RF	Tasa de Expansión Celular RF	Tasa de Expansión Celular Total
Fibroblastos 3T3 (Sigma) n=3	80.000 cél./cm ²	50 Gy	3.601.092	80.000 cél./cm ²	50 Gy	6.252.833	1,87	85.190.833	13,97	27,47
Fibroblastos 3T3 (ATCC) n=3	40.000 cél./cm ²	50 Gy	3.382.388	10.000 cél./cm ²	50 Gy	12.883.750	3,67	101.136.417	8,50	31,13
Fibroblastos dérmicos humanos (FH) n=3	10.000 cél./cm ²	50 Gy	3.892.889	10.000 cél./cm ²	50 Gy	9.025.370	2,43	84.626.291	9,13	28,10

Tabla 5. Tasa de expansión celular de queratinocitos en función del tipo de feeder en el pase celular y en la recuperación final.

	PROCESAMIENTO INICIAL F0			PASE CELULAR F1				RECUPERACIÓN FINAL (RF)		
	Densidad de siembra F0	Dosis de irradiación F0	Queratinocitos F0	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1	Queratinocitos F1	Tasa de Expansión Celular F1	Queratinocitos RF	Tasa de Expansión Celular RF	Tasa de Expansión Celular Total
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) n=1	10.000 cél./cm ²	100 Gy	6.123.000	10.000 cél./cm ²	100 Gy	17.878.500	2,92	10.582.500	0,59	1,73
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) n=1	10.000 cél./cm ²	50 Gy	11.520.000	10.000 cél./cm ²	50 Gy	-	-	330.000	-	0,03

Tabla 6. Tasa de expansión celular de queratinocitos en cada fase de cultivo celular utilizando células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como feeder.

	PROCESAMIENTO INICIAL F0			PASE CELULAR F1				RECUPERACIÓN FINAL (RF)		
	Densidad de siembra F0	Dosis de irradiación F0	Queratinocitos F0	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1	Queratinocitos F1	Tasa de Duplicación Celular F1	Queratinocitos RF	Tasa de Duplicación Celular RF	Tasa de Duplicación Celular Acumulada
Fibroblastos 3T3 (Sigma) n=3	80.000 cél./cm ²	50 Gy	3.601.092	80.000 cél./cm ²	50 Gy	6.252.833	0,84	85.190.833	3,76	4,60
Fibroblastos 3T3 (ATCC) n=3	40.000 cél./cm ²	50 Gy	3.382.388	10.000 cél./cm ²	50 Gy	12.883.750	1,88	101.136.417	3,05	4,93
Fibroblastos dérmicos humanos (FH) n=3	10.000 cél./cm ²	50 Gy	3.892.889	10.000 cél./cm ²	50 Gy	9.025.370	1,07	84.626.291	2,97	4,05

Tabla 7. Tasa de duplicación celular de queratinocitos en el pase celular, la recuperación final y acumulada en función del tipo de feeder.

	PROCESAMIENTO INICIAL F0			PASE CELULAR F1				RECUPERACIÓN FINAL (RF)		
	Densidad de siembra F0	Dosis de irradiación F0	Queratinocitos F0	Densidad de siembra F1	Dosis de irradiación F1	Queratinocitos F1	Tasa de Duplicación Celular F1	Queratinocitos RF	Tasa de Duplicación Celular RF	Tasa de Duplicación Celular Acumulada
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) n=1	10.000 cél./cm ²	100 Gy	6.123.000	10.000 cél./cm ²	100 Gy	17.878.500	1,55	10.582.500	-0,76	0,79
Células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (ADMSC) n=1	10.000 cél./cm ²	50 Gy	11.520.000	10.000 cél./cm ²	50 Gy	-	-	330.000	-	-5,13

Tabla 8. Tasa de duplicación celular de queratinocitos en el pase celular, la recuperación final y acumulada utilizando células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como feeder.

Los valores de la tasa de duplicación celular de queratinocitos obtenidos al utilizar las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo como capa alimentadora se reflejan en la Tabla 8.

La tasa de duplicación celular de queratinocitos en el pase celular y en la recuperación final solo pudo ser determinada cuando la dosis de irradiación de las células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo fue 100 Gy. La tasa de expansión celular acumulada fue negativa cuando la dosis de irradiación fue 50 Gy (Figura 8).

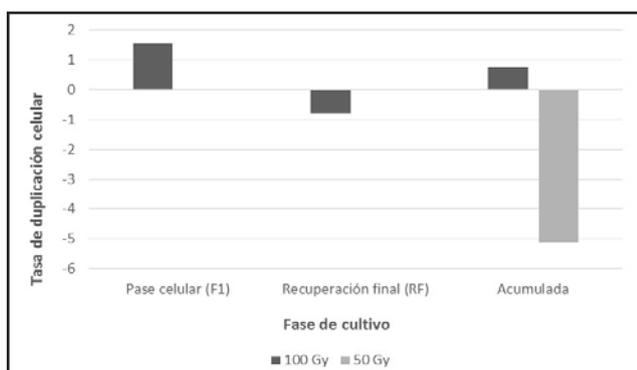


Figura 8. Tasa de duplicación celular en el pase celular, en la recuperación final y acumulada de queratinocitos en función de la dosis de irradiación de la capa alimentadora de células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo.

DISCUSIÓN:

La optimización del cultivo de queratinocitos representa uno de los retos actuales en investigación, debido a su importancia como componente fundamental de la epidermis para el desarrollo de un modelo de piel artificial humana mediante ingeniería tisular (13)(16)(17)(18).

En 1975, Rheinwald y Green (15) establecieron las condiciones óptimas para promover el cultivo de queratinocitos mediante el uso de un *feeder* que favorezca la adhesión y estimule la proliferación celular. Este *feeder* estaba formado por fibroblastos 3T3 de ratón previamente irradiados (3T3_i) para inhibir su propia multiplicación y actuar como capa alimentadora eficaz de queratinocitos.

El avance de la medicina regenerativa ha hecho posible el trasplante de piel artificial en humanos, fundamentalmente en pacientes con quemaduras de gran extensión. Las láminas de piel trasplantadas deben contener un gran número de queratinocitos en la superficie garantizando un mínimo porcentaje de trazas de fibroblastos 3T3_i, para evitar células de origen animal en el sustitutivo tisular.

La optimización en el proceso de expansión celular de los queratinocitos, ha llevado a muchos grupos de investigación a estudiar un *feeder* alternativo (19)(20), formado por células autólogas con el fin de evitar el rechazo por parte del paciente. En nuestro modelo de piel artificial humana, el tiempo limitado en cultivo, hace imposible el uso de un *feeder* autólogo. En la mayoría de los casos se han utilizado fibroblastos dérmicos humanos irradiados

(FH_i) con resultados equiparables a los obtenidos con fibroblastos 3T3_i murinos (21)(22)(23)(24)(25).

Los resultados de nuestro estudio también confirman que el uso de un *feeder* de origen humano permite la expansión celular de queratinocitos. La utilización de FH_i aislados de tejido dérmico, ha facilitado la adhesión y la proliferación de los queratinocitos, obteniéndose una tasa de expansión de queratinocitos equiparable a la obtenida con la capa alimentadora 3T3_i. En 21 días, se ha conseguido obtener un elevado número de queratinocitos, con la dificultad que supone optimizar el cultivo de este tipo celular en un corto periodo de tiempo.

Por otra parte, hemos considerado la opción de utilizar células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo (AD-MSC) como *feeder*, fuente celular poco explorada y con buenas expectativas como alternativa a la utilización de FH_i, al proceder también de tejido humano y minimizar las posibles complicaciones post-implante. Numerosos grupos de investigación han utilizado células madre de médula ósea con esta finalidad (26), sin haberse establecido hasta el momento resultados concluyentes. La limitación en la obtención de muestras, ha comprometido el desarrollo de nuestro estudio, habiéndose realizado solo una prueba para cada dosis de irradiación. Por lo tanto, se plantea la necesidad de realizar nuevos estudios con el fin de optimizar el procedimiento, debido a que los resultados obtenidos en nuestro estudio, no permiten establecer conclusiones.

En este estudio, se ha podido determinar el patrón proliferativo de los queratinocitos en cultivo utilizando tres fuentes celulares como capa alimentadora: fibroblastos murinos 3T3, fibroblastos dérmicos humanos y células mesenquimales troncales derivadas de tejido adiposo. La capa alimentadora es fundamental en este proceso porque las células que componen esta capa sirven como fuente de adhesión, y proporcionan factores de crecimiento. Se ha demostrado que con los fibroblastos dérmicos humanos subletalmente irradiados como capa alimentadora, los queratinocitos presentan una tasa de duplicación equiparable a la obtenida con el *feeder* 3T3_i. Estos resultados indican que los fibroblastos dérmicos humanos representan un sistema de capa alimentadora adecuada para soportar el cultivo de queratinocitos humanos primarios (27)(28).

El estudio llevado a cabo presenta una serie de limitaciones como son el número de repeticiones realizadas para cada tipo celular (n=3) que es el "n" mínimo para considerar un estudio representativo. Además, ha sido necesario adaptar la densidad de siembra en función del tipo celular utilizado como *feeder*; incluso de los fibroblastos 3T3 murinos procedentes de casas comerciales diferentes. En este sentido, para el desarrollo de nuestro modelo de piel artificial humana, resulta interesante utilizar una menor densidad de siembra garantizando una menor presencia de *feeder* en los queratinocitos que se incorporen como capa epitelial en el sustitutivo tisular. Por último, se plantea la posibilidad de realizar la determinación de la viabilidad celular mediante técnicas más avanzadas en estudios posteriores.

Con todo esto, a pesar de tener un número bajo de repeticiones, actualmente podemos considerar los fibroblastos dérmicos humanos como *feeder* alternativo a los fibroblastos 3T3 murinos. Utilizando una menor densidad de siembra, se han obtenido resultados similares en cuanto a número de queratinocitos, porcentaje de viabilidad celular, tasa de expansión celular y tasa de duplicación celular, en el mismo tiempo de cultivo, suprimiendo la utilización de células de origen murino.

CONCLUSIÓN:

Los fibroblastos dérmicos humanos irradiados se presentan como capa alimentadora alternativa a los fibroblastos 3T3 murinos para promover la expansión celular de queratinocitos. Los fibroblastos dérmicos humanos irradiados proporcionan una capa alimentadora funcional que permite la expansión in vitro de manera eficaz de los queratinocitos que se van a utilizar con fines clínicos para el desarrollo de un modelo de piel artificial humana.

AGRADECIMIENTOS

Servicio de Medicina Nuclear del Complejo Hospitalario Universitario de Granada

FINANCIACIÓN

FIS ISC-III and FEDER PI13/02576 y Beca Mutual Médica

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*. 1993;260(5110):920–6.
2. Bhat ZF, Bhat H, Pathak V. Principles of Tissue Engineering. *Principles of Tissue Engineering*. 2014. 1663-1683 p.
3. McGrath JA, Eady RAJ, Pope FM. Anatomy and Organization of Human Skin. *Rook's Textbook Dermatology*. 2004;45–128.
4. Amirlak B, Shahabi L. Skin Anatomy. *Medscape*. 2015. p. 1–8.
5. McLafferty E, Hendry C, Farley A. The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin. *Nurs Stand*. 2012;27(3):35–42.
6. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol*. 2002;12(4):390–9; quiz 400–1.
7. Boulais N, Misery L. The epidermis: A sensory tissue. *European Journal of Dermatology*. 2008. p. 119–27.
8. Black AF, Bouez C, Perrier E, Schlotmann K, Chapuis F, Damour O. Optimization and Characterization of an Engineered Human Skin Equivalent. *Tissue Eng*. 2005;11(5-6):723–33.
9. Larouche D, Paquet C, Fradette J, Carrier P, Auger FA, Germain L. Regeneration of skin and cornea by tissue engineering. *Methods Mol Biol*. 2009;482:233–56.
10. Bell E, Ehrlich HP, Buttle DJ, Nakatsuji T. Living tissue formed in vitro and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness. *Science*. 1981;211(4486):1052–4.
11. Lamme EN, Van Leeuwen RTJ, Brandsma K, Van Marie J, Middelkoop E. Higher numbers of autologous fibroblasts in an artificial dermal substitute improve tissue regeneration and modulate scar tissue formation. *J Pathol*. 2000;190(5):595–603.
12. MacNeil S. Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature*. 2007;445(7130):874–80.
13. Supp DM, Boyce ST. Engineered skin substitutes: Practices and potentials. *Clin Dermatol*. 2005;23(4):403–12.
14. Atiyeh BS, Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. *Burns*. 2007. p. 405–13.
15. Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*. 1975;6(3):331–43.
16. Stacey GN, Cobo F, Nieto A, Talavera P, Healy L, Concha Angel. The development of "feeder" cells for the preparation of clinical grade hES cell lines: Challenges and solutions. *J Biotechnol*. 2006;125(4):583–8.
17. Lamb R, Ambler CA. Keratinocytes Propagated in Serum-Free, Feeder-Free Culture Conditions Fail to Form Stratified Epidermis in a Reconstituted Skin Model. *PLoS One*. 2013;8(1).

18. Hernon CA, Harrison CA, Thornton DJA, MacNeil S. Enhancement of keratinocyte performance in the production of tissue-engineered skin using a low-calcium medium. *Wound Repair Regen.* 2007;15(5):718–26.
19. Coolen NA, Verkerk M, Reijnen L, Vlig M, Van Den Bogaerd AJ, Breetveld M, et al. Culture of keratinocytes for transplantation without the need of feeder layer cells. *Cell Transplant.* 2007;16(6):649–61.
20. De Corte P, Verween G, Verbeken G, Rose T, Jennes S, De Coninck A, et al. Feeder layer- and animal product-free culture of neonatal foreskin keratinocytes: Improved performance, usability, quality and safety. *Cell Tissue Bank.* 2012;13(1):175–89.
21. Mujaj S, Manton K, Upton Z, Richards S. Serum-free primary human fibroblast and keratinocyte coculture. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(4):1407–20.
22. Sun T, Higham M, Layton C, Haycock J, Short R, MacNeil S. Developments in xenobiotic-free culture of human keratinocytes for clinical use. *Wound Repair Regen.* 2004;12(6):626–34.
23. Bullock AJ, Higham MC, MacNeil S. Use of human fibroblasts in the development of a xenobiotic-free culture and delivery system for human keratinocytes. *Tissue Eng.* 2006;12(2):245–55.
24. Bisson F, Rochefort Eloise, Lavoie A, Larouche D, Zaniolo K, Simard-Bisson C, et al. Irradiated human dermal fibroblasts are as efficient as mouse fibroblasts as a feeder layer to improve human epidermal cell culture lifespan. *Int J Mol Sci.* 2013;14(3):4684–704.
25. Sharma SM, Fuchsluger T, Ahmad S, Katikireddy KR, Armant M, Dana R, et al. Comparative Analysis of Human-Derived Feeder Layers with 3T3 Fibroblasts for the Ex Vivo Expansion of Human Limbal and Oral Epithelium. *Stem Cell Rev Reports.* 2012;8(3):696–705.
26. Cheng L, Hammond H, Ye Z, Zhan X, Dravid G. Human adult marrow cells support prolonged expansion of human embryonic stem cells in culture. *Stem Cells.* 2003;21(2):131–42.
27. Auxenfans C, Thepot A, Justin V, Hautefeuille A, Shahabeddin L, Damour O, et al. Characterisation of human fibroblasts as keratinocyte feeder layer using p63 isoforms status. *Biomed Mater Eng.* 2009;19(4-5):365–72.
28. Panacchia L, Dellambra E, Bondanza S, Paterna P, Maurelli R, Paionni E, et al. Nonirradiated human fibroblasts and irradiated 3t3-j2 murine fibroblasts as a feeder layer for keratinocyte growth and differentiation in vitro on a fibrin substrate. *Cells Tissues Organs.* 2009;191(1):21–35.

La asistencia transfronteriza en terapias avanzadas: análisis sobre una nueva realidad en salud

Cross-border assistance in Advanced Therapies: analysis of a new reality in Health

Antonio Leopoldo Santisteban Espejo
Hospital Universitario Puerta del Mar de Cádiz

Resumen

La medicina del siglo XXI es el contexto donde se están desarrollando nuevas realidades complejas que reclaman para su análisis de enfoques holísticos adecuados. La asistencia sanitaria transfronteriza en terapias avanzadas constituye una de estas nuevas realidades. En este sentido, el objetivo del presente artículo es proponer un modelo de análisis donde convergen la Ciencia, la Ética y el Derecho; y en este proceso, las actividades transversales en política y educación sanitaria constituyen ejes fundamentales para la elaboración y sistematización de dicho análisis.

Abstract

Twenty-first century medicine is the context where new complex realities are developing and which they claim for his analysis of holistic approaches. Cross-border health care in advanced therapies is one of these new realities. The aim of the present article is to propose a model of analysis where converge the Science, the Ethics and the Law; and in this process, the transverse activities in politics and health education constitute fundamental axes in order to produce and to systematize this analysis.

Palabras clave: Terapias avanzadas, Asistencia sanitaria transfronteriza, Turismo médico, Turismo sanitario, Bioética.

Keywords: Advanced therapies, Cross-border health care, Medical tourism, Health care tourism, Bioethics.

INTRODUCCIÓN

“Así y todo , y después de confesar que mi amor por la patria grande supera, con mucho, al que profeso a la patria chica, he sentido más de una vez vehementes deseos de conocer la aldea humilde donde nació. [...] Impulsado, pues, por tan naturales sentimientos, emprendí, hace dieciocho años, cierto viaje a Petilla. Después de determinar cuidadosamente su posición geográfica (que fue arduo trabajo) y de estudiar el enrevesado itinerario [...] Caballero en un mulo, y escoltado por peatón conocedor del país, púseme en camino cierta mañana del mes de agosto.”

Santiago Ramón y Cajal

Desde que Santiago Ramón y Cajal describiera en 1939 su viaje de retorno a Petilla de Aragón, el modo en que el ser humano se desplaza se ha modificado de manera considerable (1). También han vivido este cambio las prestaciones sanitarias. Así, la asistencia sanitaria transfronteriza es un fenómeno emergente en la sociedad del siglo XXI (2) y, en consecuencia, al analizar este nuevo modelo de relación clínica conviene considerar al menos los siguientes seis factores: 1) la tecnificación de la sociedad, que ha facilitado el acceso a la información sanitaria y la movilidad de los pacientes; 2) el

marco jurídico que regula el intercambio de prestaciones sanitarias entre Estados; 3) la racionalidad económica como eje de la política global contemporánea; 4) la convergencia entre el sector sanitario y el sector turístico; 5) la ética que corresponde a este nuevo modelo de relación clínica y 6) el papel de la educación sanitaria en la formación de ciudadanos prudentes en la gestión de sus procesos de salud-enfermedad no solo a nivel nacional, sino internacional.

La sociedad del siglo XXI es el contexto donde se están desarrollando nuevas realidades complejas y que reclaman para su análisis de adecuados enfoques holísticos. La asistencia sanitaria transfronteriza en terapias avanzadas es una de ellas. Por esta razón, los modelos de análisis deberían intentar converger la Ciencia, el Derecho y la Ética; y en este proceso, las actividades transversales en política y educación sanitaria constituyen el modelo donde efectivamente pueden cristalizar las conocimientos de estas disciplinas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se pretende garantizar seguridad, eficacia y calidad del servicio sanitario, allende el lugar de prestación. En este sentido, el presente trabajo tiene por objetivo analizar el hecho de la asistencia sanitaria transfronteriza en el caso particular de las terapias avanzadas. El concepto de *terapia avanzada* engloba a los procedimientos propios de la ingeniería tisular, la

terapia celular somática y la terapia génica (12). Para ello, se seguirá el siguiente esquema dividido en cuatro apartados.

En el apartado primero se analizarán los conceptos de asistencia sanitaria transfronteriza, turismo sanitario y turismo médico, destacando la falta de consenso actual en este punto y proponiendo una definición para cada caso; tras lo cual se expondrá la definición jurídica de las terapias avanzadas. El apartado segundo acomete el tema concreto de la asistencia sanitaria transfronteriza en terapias avanzadas, siendo el objetivo ahora describir los actores involucrados en este nuevo modelo de relación clínica, exponer el marco legal que la regula y presentar sus consecuencias en salud. El apartado tercero tratará de proponer un modelo de análisis según las éticas de la responsabilidad y su aplicación en tres niveles: el de la relación clínica, las políticas sanitarias y las relaciones entre Estados. Se asumen para ello las propuestas de Bengoa sobre la atención sanitaria al paciente crónico (3) y de Repullo sobre la desinversión sanitaria (4) y las políticas tutelares asimétricas (5). En cuarto lugar se expresan las conclusiones relativas a lo anterior.

I. EL PROBLEMA DE LA TERMINOLOGÍA: ASISTENCIA SANITARIA TRANSFRONTERIZA, TURISMO SANITARIO Y TURISMO MÉDICO.

1.1 Términos equívocos. ¿Existe consenso al hablar de turismo sanitario?

Según la Organización Mundial del Comercio y la Organización Mundial de la Salud existen cuatro modelos de intercambio de prestaciones sanitarias (6). 1) El *suministro transfronterizo de servicios sanitarios o sanidad a distancia* que consiste en el empleo de las innovaciones en comunicación para prestar asistencia sanitaria más allá del lugar de residencia del profesional sanitario. Así, la OMS considera la *telemedicina* como “el reparto de servicios sanitarios, donde la distancia es un factor crítico, por parte de los profesionales sanitarios mediante el uso de las tecnologías de la información y comunicación con el fin de conseguir el intercambio válido de información [...] así como para la formación continuada de los profesionales de salud [...]” (7). 2) La *expansión de las prestaciones sanitarias en el extranjero* que corresponde con la potenciación de servicios para el consumo por parte de ciudadanos del país local. Este modelo es empleado por algunos países en vías de desarrollo potenciando la medicina tradicional como herramienta para el crecimiento económico. 3) La *prestación sanitaria basada en la presencia comercial* que es ofertada en un servicio privado o de aseguramiento sanitario (público o privado) gracias a la existencia de contratos bilaterales entre el país emisor y el país receptor. La consecuencia directa es el aumento del flujo de personas por motivos sanitarios y el incremento de la inversión extranjera en el país receptor. Finalmente, se alude a 4) la *movilidad de los propios profesionales sanitarios*, existiendo distintas posibilidades que varían desde el voluntariado hasta la regulación mediante contratos de base remunerada o no.

Esta tipología de definición obedece a una lógica de mercado, prueba de ello es que el segundo modelo refleja una racionalidad de mercado interno basada en el principio jurídico del país de origen, es decir, que cuando una acción se ejecuta en un país distinto de aquel de residencia las leyes a aplicar serán aquellas del país de residencia (8). En este sentido, es cierto que las definiciones encierran la variedad de realidades en que puede insertarse el concepto de *asistencia sanitaria transfronteriza (AST)*, pero no se afirma aquí que los sistemas garantes de la salud deban suscribirse a esta lógica. Por ello, se propone definir la AST como *el conjunto de actividades cuyo fin principal sea promocionar el valor de la salud en un individuo o en una población más allá de su lugar de residencia habitual*. A este respecto, se entiende que el valor de la salud no constituye un concepto único, sino que su construcción es un proceso mediado históricamente y culturalmente.

Por otra parte, la distinción entre turismo sanitario y turismo médico puede plantearse inicialmente con un solo criterio: el tipo de prestación; de suerte que actividades donde se brindan prestaciones médicas corresponden al turismo médico y el resto se

entienden como turismo sanitario (por ejemplo, la utilización de un servicio de balneoterapia pertenecería al turismo sanitario y la realización de una cirugía bariátrica al turismo médico). No obstante, véase que ahora la dificultad se traslada a definir qué se entiende o no por prestación médica. En este punto se prefiere a veces afirmar, de acuerdo con Christine Lee, que *no existe una definición universalmente válida de turismo médico* (6), y que lo importante es aclarar el contenido de las actividades. En este sentido, según Phua la distinción radica en la motivación que empuja al paciente, por lo que debe hablarse de turismo sanitario *sensible al precio* y de turismo sanitario *sensible a la calidad* según se viaje motivado por una reducción del coste o por una prestación de alta calidad no adquirible en el país de residencia (6). La figura del intermediario o facilitador cumple precisamente con la función de ayudar a los potenciales turistas en la selección de hospitales y profesionales, colaborando en la parte administrativa del trayecto (9). Según la clasificación de las agencias de turismo médico de Leigh Turner, en la que se diferencia en función del tipo de prestaciones sanitarias ofertadas entre agencias especialistas, agencias generales o agencias intermediarias, el turismo sensible al precio se desarrolla con frecuencia en el contexto de las agencias especialistas (10).

Así, y dado que Lee no define los conceptos y Phua clasifica pero no analiza el contenido de las expresiones, se propone hablar de turismo sanitario o turismo médico de tres tipos: por *ventaja asistencial*, por *prestación de alta calidad* y por *prestación no adquirible*. En el primer caso, el paciente viaja buscando una reducción en el coste de la prestación o bien una mejora en el tiempo de espera. En el segundo caso, el desplazamiento del paciente está motivado por la calidad de la prestación que brinda un determinado país, esté la misma disponible o no en su lugar de origen. De hecho, así sucede con ciertos países que se han especializado en ofertar prestaciones sanitarias asociadas a tecnologías avanzadas. En tercer y último lugar, no es posible para el paciente obtener la prestación sanitaria en su país de origen, tanto en el sistema público como en el sistema privado, y esto constituye la motivación principal para desplazarse a otro país.

Dado que la literatura emplea reiteradamente el término *asistencia sanitaria transfronteriza (cross-border health care)* y que éste engloba a la mayoría de realidades que representan los flujos de pacientes y prestaciones, ésta será la expresión que se emplee en el artículo. En consecuencia se define ya la *asistencia sanitaria transfronteriza en terapias avanzadas* como *el conjunto de actividades cuyo fin principal sea promocionar el valor de la salud en un individuo o en una población más allá de su lugar habitual de residencia y en el que se ve involucrado el uso de los productos de la terapia génica, terapia celular somática o ingeniería tisular*.

1.2 Definición jurídica de las terapias avanzadas.

Previamente a su definición jurídica se entiende aquí que las terapias avanzadas son disciplinas de las ciencias de la salud, asumiendo el concepto de disciplina según Toulmin. Dicho autor afirma en este sentido que *“dentro de una cultura y época particular, las actividades intelectuales de los hombres no forman una gama continua desordenada. Por el contrario, caen en «disciplinas» más o menos bien definidas, caracterizadas cada una de ellas por su propio cuerpo de conceptos, métodos y objetivos fundamentales.”*. Así, *“cuando este objetivo común es de carácter explicativo, la disciplina es científica”, [éstas, las disciplinas científicas] como las especies orgánicas, son «entidades históricas» en evolución y no «seres eternos.»* (11).

A nivel jurídico, la Directiva 2009/120/CE (12) mediante modificación de la Directiva 2001/83/CE (13) define medicamento de *terapia génica* como un medicamento biológico con las características siguientes: a) incluye un principio activo que contiene un ácido nucleico recombinante o está constituido por él, utilizado en seres humanos o administrado a los mismos con objeto de regular, reparar, sustituir, añadir o eliminar una secuencia génica; y b) su efecto terapéutico, profiláctico o diagnóstico depende directamente de la secuencia del ácido nucleico recombinante que contenga o del producto de la expresión genética de dicha secuencia, excluyéndose las vacunas. Por otra parte, medicamento de *terapia celular somática* es aquel medicamento biológico que contiene células

o tejidos o está constituido por ellos y que han sido objeto de manipulación sustancial de modo que se hayan alterado sus características biológicas, funciones fisiológicas o propiedades estructurales pertinentes para el uso clínico previsto, o por células o tejidos que no se pretende destinar a la misma función esencial en el receptor y en el donante, o bien un producto que se presenta con propiedades para ser usado por seres humanos o administrado a los mismos, con objeto de tratar, prevenir o diagnosticar una enfermedad mediante la acción farmacológica, inmunológica o metabólica de sus células o tejidos.

El Reglamento 1394/2007/CE (14) define por *producto de ingeniería tisular* aquel que “contiene o está formado por células o tejidos manipulados por ingeniería, y del que se alega que tiene propiedades, se emplea o se administra a las personas para regenerar, restaurar o reemplazar un tejido humano.” Sin embargo, en el estado español las definiciones dadas en el Real Decreto 477/2014 (15) tras remitir al Real Decreto 1345/2007 (16) solo aluden a la terapia génica y la terapia celular somática, pero no definen ingeniería tisular. De hecho, y analizados con detalle estos textos jurídicos, la definición dada para terapia celular somática entrelaza conceptos con otros más propios de la ingeniería tisular. Así se lee que “a efectos del presente anexo, se entenderá por medicamentos de terapia celular somática la utilización en seres humanos de células somáticas vivas, tanto autólogas (procedentes del propio paciente), como alogénicas (de otro ser humano) o xenogénicas (de animales), cuyas características biológicas han sido alteradas sustancialmente como resultado de su manipulación [...] Dicha manipulación incluye [...] la utilización de células alogénicas y xenogénicas asociadas con productos sanitarios empleados «ex vivo» o «in vivo» (p. ej., microcápsulas, matrices y andamiajes intrínsecos, biodegradables o no biodegradables).”

Consecuentemente y dada la cierta confusión jurídica al hacer colisionar los procedimientos de la terapia celular somática y la ingeniería tisular se pasa a conceptualizar a ésta última según las definiciones de Langer y Vacanti y Campos. Para Langer y Vacanti la ingeniería tisular es un campo interdisciplinar que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la vida para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función de un tejido (17), quedando descritos en *Tissue Engineering (1993)* los tres pilares de su ejercicio: el empleo de células aisladas o sustitutos celulares, de sustancias inductoras de la actividad tisular y células ubicadas o no en matrices. Por otra parte, en Campos la definición se amplía y esto al menos por dos motivos. En primer lugar, porque aún reconociendo la dificultad técnica y normativa inherente a la construcción de tejidos, el fin de esta disciplina se proyecta directamente a la terapéutica, así “no alcanza a mi juicio [la ingeniería tisular] toda su dimensión y trascendencia hasta que no se traslada a la clínica con las dificultades y los exigentes requisitos que la actual normativa demanda” (18). Y en segundo lugar, porque se estudia incluida en una dimensión más amplia, que es aquella que pretende comprender la constitución del cuerpo humano bajo un nuevo paradigma: el paradigma constructivo (19), (20).

II. LA ASISTENCIA SANITARIA TRANSFRONTERIZA EN TERAPIAS AVANZADAS.

2.1 Principales espacios y actores en la red de la AST.

Hanefled et al. han insistido acerca de la dificultad para recabar información en este ámbito, y por ello “poco es sabido sobre qué pacientes eligen viajar y porqué, mientras que otros no lo hacen. Los detalles sobre el volumen o el flujo de pacientes así como sobre los recursos gastados permanecen inciertos. [...] De manera similar, el papel de los proveedores privados, intermediarios y empresas de marketing permanecen en una «caja negra.»” (21) y con frecuencia provienen de fuentes opacas (22). Además, los países se han especializado en determinadas prestaciones: Singapur es conocido por las prestaciones de alta tecnología, Tailandia en cirugía cardíaca, ortopédica e intervenciones de cambio de sexo, el Este de Europa en odontología y España para tratamientos de fertilidad (20). No obstante, puede afirmarse que aquí son tres los actores involucrados: 1) usuario; 2) profesional del área de la salud; y 3)

figura intermediaria o tercera empresa (agencias de turismo, compañías o brókers). La figura 1 representa el espacio que ocupa cada uno de estos agentes.

Como afirma Turner “son compañías con base en Internet y que ocupan el espacio virtual”, pero “aún reconociendo el poderoso papel de Internet como herramienta en el marketing transnacional de la salud, la localización geográfica de las compañías importa. [...] Para el propósito de reforzar leyes y regulaciones, la localización de las compañías es relevante.” (10).

2.2 Las terapias avanzadas en la nueva medicina.

Si un hecho preocupa hoy en la prestación transfronteriza de terapias avanzadas es el crecimiento de clínicas que ofertan tratamientos con células madre. Como afirman Kiatpongsan y Sipp, “un importante número de compañías como NuTech Mediworld y Medra, Inc. se publicitan a través de entrevistas, blogs o vídeos en la plataforma YouTube describiendo las experiencias subjetivas de pacientes que han seguido sus tratamientos” (23). La captación de pacientes está basada en un lenguaje impreciso que suele definir eficacia como “alguna mejora” y, lo que constituye un hecho más grave, los productos empleados no suelen cumplir con los requisitos de seguridad y eficacia que la comunidad científica exige. Para Taylor-Weiner y Zivin (24) las posibilidades de estas terapias son incorrectamente informadas, comportando un aumento de la esperanza que los pacientes depositan en los avances y explotando su vulnerabilidad. En esta realidad insiste Campos al afirmar que “la demanda social y la búsqueda desesperada de soluciones [...] han dado origen a la aparición de clínicas y centros en distintos países que ofrecen en este campo soluciones a dichos problemas sin una base científica sólida y por supuesto sin garantía de éxito. [...] La consecuencia de todo ello es la inseguridad, la frustración y la falsa propaganda lanzada sobre estas nuevas terapias que [...] pueden incluso llegar a inhibir el propio y natural desarrollo de las mismas.” (18).

Desde los trabajos de Amariglio et al. donde se describe por primera vez la aparición de un tumor cerebral derivado de células de donante tras un tratamiento en una clínica rusa se puede afirmar, y esto sin prestar lugar a la duda o a la incertidumbre, que en ciertas ocasiones los tratamientos ofertados por estas clínicas son inseguros e ineficaces. (25) Según Regenber et al. estas afirman tratar con eficacia condiciones que van desde el envejecimiento hasta el cáncer pasando por el síndrome de Down o la enfermedad de Huntington. (2) y, por ello, la mayoría de pacientes que las usan presentan enfermedades degenerativas donde los tratamientos previos han fracasado; ocurriendo, en acuerdo con Murdoch y Scott, que *la esperanza es aquí la serpiente que se come a sí misma* (26).

Entre las enfermedades más frecuentes están la esclerosis lateral amiotrófica, las lesiones medulares y la esclerosis múltiple (2). De otra parte, es habitual la insistencia en la necesidad de largos períodos para que la terapia sea eficaz y en la probable necesidad de nuevas re-inyecciones del producto. Se muestran ahora los testimonios de dos pacientes que acudieron a estas clínicas, presentando una esclerosis múltiple y una diabetes mellitus tipo I (2).

1- «Me he sentido más o menos igual que antes de realizar el tratamiento con células madre sin importantes cambios que contar. He pasado por períodos de sentirme mejor, pero tras ellos vuelvo a estar normal. Estoy interesado en ir a tratarme de nuevo en primavera.»

2- «Me dijeron que tendría que esperar aproximadamente entre dos y seis meses hasta que ocurriera algún efecto. Sin embargo, he sentido una importante mejoría solo dos meses después de que las células fueran re-inyectadas. Por la noche mi azúcar en sangre cayó dramáticamente. Hoy he tenido que tomar un 60% menos de mi insulina de liberación rápida y un 40% menos de mi insulina lenta. ¡Me parece que esto es genial! Estoy organizándome para volver a Alemania a por un segundo tratamiento.»

No se intenta afirmar que el progreso en este campo traiga solo inconvenientes, muchos avances se han hecho adecuadamente.

te. En cambio, sí apremia sacar a la luz la situación porque, como afirma Charo, ésta es expresión del riesgo que comporta en ciencia el *argumentum ad novitatem*; pero la iniciación de ensayos clínicos en humanos, recuérdese, depende de la existencia de datos farmacológicos y toxicológicos obtenidos en estudios preclínicos y que permitan establecer razonablemente seguridad, eficacia y calidad, y no solamente de la novedad (27).

2.3 Marco jurídico de la AST en terapias avanzadas en la UE.

En primer lugar, no se considerará medicamento de terapia avanzada aquel que no cumpla con las definiciones jurídicas expuestas, como sucede con el trasplante de progenitores hematopoyéticos o la infusión de islotas pancreáticos que no hayan sido expandidos previamente. Desde 2003, el empleo de células vivas como medicamentos queda regulado por la Normativa 2003/63/EC y, por tanto, por la misma legislación que rige la investigación, la autorización y la comercialización de fármacos para uso humano. Además, las Directivas 2004/23/CE y 2006/12/CE establecen las normas de calidad y seguridad necesarias para la donación, obtención, evaluación, procesamiento, preservación, almacenamiento y distribución de células y tejidos.

Los productos de la terapia celular y la ingeniería tisular considerados medicamentos deben cumplir con ambas normativas y consecuentemente las instalaciones y procesos de producción deben hacerlo con las normas de correcta fabricación (GMP) que exigen los laboratorios farmacéuticos. Además, es necesaria la autorización de los protocolos de ensayo clínico por los comités éticos de Investigación clínica de cada hospital. Una vez registrado el medicamento, para poder ser comercializado el producto de terapia celular y de ingeniería tisular debe cumplir con los requisitos exigidos por un control existente solo a nivel centralizado mediante la Agencia Europea del Medicamento y que, por tanto, no está validado a nivel nacional (19).

A lo anterior deben atenerse las clínicas que ofertan productos de terapia avanzada si se quiere cumplir con los estándares de calidad, seguridad y eficacia.

III. ÉTICAS DE LA RESPONSABILIDAD Y ASISTENCIA SANITARIA TRANSFRONTERIZA.

La expresión “éticas de la responsabilidad” fue acuñada originalmente en 1919 por Max Weber (28). Con ella se presenta un modelo intermedio entre las éticas de la convicción y las éticas del poder, es decir, entre deontologismo y utilitarismo. Responsable es aquí quien pondera principios y resultados. En este sentido ¿qué ética es la que corresponde a la asistencia sanitaria transfronteriza en terapias avanzadas?. Se distinguirán para su estudio tres niveles: ética de la relación clínica, de las políticas sanitarias y de las relaciones entre Estados.

3.1 Ética de la responsabilidad en el nivel de la relación clínica.

Pereda ha escrito que el individuo prudente es aquel “en cuya vida la deliberación ocupa un papel importante [...]” (29). Del estudio de la prudencia se ocupa Aristóteles en la *Ética Nicomaquea* al afirmar que es la virtud que permite el ejercicio de las demás y así “habría que usar el prefijo «entre», la *phrónesis* es la capacidad de mediar «entre» las virtudes intelectuales y morales, capacidad que es ella misma una virtud [...]”. El prudente (*phrónimos*) debe poder diseñar desde el conocimiento un ideal de vida buena, aprobar la deliberación como método para la toma de decisiones disponiendo de la sensibilidad que atiende con minucia lo particular y hacer de lo anterior hábitos de vida (29). Prudencia no se identifica con pasividad o quietud, sino que es el saber práctico del que delibera y actúa conjugando principios y consecuencias. Desde 1927 se conoce el carácter ontológico y no epistemológico de la incertidumbre en ciencia (30), y en este sentido, no existe menos incertidumbre real en la búsqueda de solución que acomete un paciente desesperanzado cuando hace uso de la informática sin el abrigo de un carácter prudente.

Por ello, si al usuario conviene el obrar prudente en el sentido aristotélico, en el otro polo de la relación clínica la aceptación del imperativo categórico kantiano imposibilitaría mediatizar al ser humano en favor de la desmesura (*hybris*) económica. Conviene desechar aquí el argumento según el cual estas clínicas ocupan el espacio para la esperanza abierto tras los límites de la medicina académica, y ello porque todo valor tiene sus límites. Pasarlo por alto es hacer bueno el fenómeno de la tiranía del valor descrito por Hartmann y descuidar que la esperanza es un valor fin y no un valor medio, entendiendo *valor* como lo hace el constructivismo axiológico (31). En fin, recuérdese con Goethe que en ciertas ocasiones *limitarse es extenderse* (32).

Por lo anterior, y aún aceptando que el concepto de prudencia admite la dimensión de universalidad que en acuerdo con Conill habrá de aceptar toda ética que no pretenda ser excluyente (33), se reconoce que el obrar prudente está más cercano al acto individual que al colectivo, y que ello es razón suficiente para proponer una ética de la responsabilidad basada en la prudencia aristotélica y en el imperativo categórico kantiano para este primer nivel de la relación clínica. A este respecto, constituye un aspecto fundamental cómo construye su educación el paciente y, cómo por tanto, puede construirse también un carácter prudente en relación a la gestión de su salud en un nivel tanto nacional como internacional. En este proceso existen esencialmente tres vías de aprendizaje: la auto-educación, la educación social (privada o pública) y la educación a través de los medios de comunicación (34).

3.2 Responsabilidad y política sanitaria: el modelo de atención a crónicos.

Para Ortega y Gasset la auténtica necesidad que se impone a un sistema científico no consiste en la aportación de un nuevo concepto de verdad, sino en la comprensión “de su tendencia profunda, de su intención ideológica, pudiera decirse, de su fisonomía.” (35). La fisonomía de los actuales sistemas de salud consiste entre otras cosas en la alta incidencia de pacientes crónicos, y estos son precisamente quienes acuden a veces a las clínicas citadas. Por esta razón, ¿no existe en este hecho un buen punto de partida?.

De acuerdo con Bengoa, el gran desafío actual consiste en transformar los sistemas sanitarios en sistemas más proactivos que reactivos y más colaborativos que fragmentados (3); en este sentido, *mejorar la atención del paciente crónico comporta también disminuir la necesidad de hacer un uso incorrecto de las prestaciones transfronterizas*. Y ello es viable mediante el fomento de los sistemas de telemedicina, la estratificación por riesgo de la población y las actuaciones *bottom-up*, es decir, desde abajo hacia arriba y en términos clínicos. Por tanto, fomentar la educación en tecnologías de la información y estratificar a los pacientes combinando situación clínica y conocimientos tecnológicos para obtener un nivel del riesgo de acabar en clínicas inseguras parecen opciones a considerar en el nivel de la política sanitaria.

En este marco resulta crucial actuar en sentido ascendente, ya que como afirma el propio Bengoa “los políticos cambian según las elecciones y consecuentemente también los directivos [...] si los proyectos han sido de abajo hacia arriba se hallan asentados localmente y tenderán a sobrevivir mejor a los cambios políticos.” (3). Bien entendido, que éstas actividades educativas en tecnologías se enmarcarían en lo que Repullo llama *políticas tutelares asimétricas*, es decir, aquellas donde “no siendo por su naturaleza decisiones sociales sino individuales, sin embargo, los poderes públicos acaban interviniendo.”, ya que el interés de éstos es estudiar aquellas distorsiones en las preferencias individuales por las que el individuo reflexiona y decide su comportamiento, y que con frecuencia le llevan a actuar contra su propio bienestar y salud (5). Pierret y Friederichsen (36) y Wilson, Gonzalez y Pollock (37) han aportado interesantes resultados mediante experiencias educativas en ingeniería tisular y en células madre.

En este sentido, y aún reconociendo la limitación de los recursos en salud, presentar las políticas de desinversión sanitaria como políticas activas puede ayudar a reorientar recursos hacia otras actividades que permitan añadir valor y mejorar la salud de nuestros pacientes y ciudadanos (4).

3.3 Hacia una ética global de las terapias avanzadas.

Proponer un sistema ético que guíe las relaciones entre Estados es el objetivo de este último apartado, en otras palabras, ¿en qué valor ha de basarse una ética global de la asistencia transfronteriza en terapias avanzadas?. Aún reconociendo la dificultad se asume con Delors que “frente a los numerosos desafíos del porvenir, la educación constituye un instrumento indispensable” (38) y ello porque como ha hecho ver Cortina si la amoralidad es un concepto vacío no existe otro vínculo más intensamente capaz de unir individuos o Estados que una auténtica educación en el vínculo ético (39). Siguiendo esta línea, Conill ha escrito que no cabe ante retos universales “sino la respuesta de una actitud ética universalista, que tiene por horizonte para la toma de decisiones el bien universal, aunque sea preciso construirlo desde el bien local”(33).

Actuar localmente pero sin ignorar lo global parece más sensato que esperar a que lo global incida en lo local ya que en esto consiste precisamente la espera de Godot. Ahora bien, si ha de proponerse un valor que guíe las relaciones entre Estados en la prestación transfronteriza de terapias avanzadas este es el valor de la *solidaridad*. Y ello por tres razones.

Primero, porque se está aludiendo a solidaridad en el sentido clásico de la *Ética Nicomaquea*; solidaridad como *philia* o amistad y se conviene con Salguero que hablar de solidaridad de este modo es afirmar “una forma de reencuentro con el otro, [y esta, la solidaridad] supone reconocer una semejanza y actúa como un impulso natural que conduce a la justicia”(40). Segundo, porque afirmar una ética de la responsabilidad solidaria supone el distanciamiento del puro deontologismo o utilitarismo, ya que ninguno de estos puede fundamentar un principio de universalización mediándolo adecuadamente con las exigencias de las organizaciones e instituciones modernas (33). Y en tercer lugar, porque si existe un atributo que defina la situación del paciente abocado a terapias ineficaces e inseguras ese es la vulnerabilidad y, ¿acaso no se ha de ser más solidario precisamente con el más vulnerable?.

Cuestiones como la creación de un marco jurídico y ético global que guíe las actuaciones en terapias avanzadas entre los diferentes Estados, el cumplimiento de los estándares de calidad y seguridad a través de ensayos clínicos validados por la comunidad científica internacional o la existencia del derecho a recibir un tratamiento en terapias avanzadas en un país distinto al de residencia, son cuestiones que deberán ser estudiadas y tratadas en el futuro.

Todo esto, aunque solo sea por intentar hacer cierto el tópico de la «aldea global» y no aquel otro, que parece hoy más realista, de la «jungla global» (33).

CONCLUSIONES

La asistencia sanitaria transfronteriza es una realidad creciente en la sociedad del siglo XXI. El caso concreto en que se involucran terapias avanzadas constituye un reto por las ilusiones y esperanzas que muchos pacientes, fundamentalmente crónicos, tienen depositadas en ellas. Existen clínicas que aprovechándose de esta situación ofertan tratamientos que no cumplen con los requisitos de seguridad, eficacia y calidad que la comunidad científica exige. En este sentido, tras haber estudiado la terminología, las consecuencias sanitarias y su marco jurídico se han propuesto modelos de solución basados en las éticas de la responsabilidad. Para ello se han analizado tres niveles: relación clínica, política sanitaria y relaciones entre Estados. Estos tres momentos de actuación, sustentados en la capacidad de la política y de la educación ciudadana como agentes transformadores de la realidad en salud, deberían integrarse si realmente se aspira a una globalización éticamente fundada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Cajal SR. Mi infancia y juventud. Espasa-Calpe, S.A. Madrid; 1955.

2. Regenber AC, Hutchinson LA, Schanker et al. Medicine on the Fringe: Stem Cell-Based Interventions in Advance of Evidence. *Stem Cells*. 2009; 27: 2312-2319.

3. Bengoa R. Transforming health care: an approach to system-wide implementation. *Int J Integr Car*. 2013. 13: 1-10.

4. Repullo JR. Taxonomía práctica de la «desinversión sanitaria» en lo que no añade valor, para hacer sostenible el Sistema Nacional de Salud. *Rev Calid Asist*. 2012; 27(3): 130-138.

5. Repullo JR. Políticas tutelares asimétricas: conciliando preferencias individuales y sociales en salud pública. *Gac Sanit*. 2009; 23(4) :342-347.

6. Badulescu D, Badulescu A. Medical tourism. Between Entrepreneurship Opportunities and Bioethics Boundaries: Narrative Review Article. *Iranian J Publ Health*; 2014; 43, 4: 406-415.

7. World Health Organization. Telemedicine. Opportunities and developments in Member States. *Global Observatory for eHealth Services*. 2010; 2: 8-12.

8. Wismar M, Palm W, van Ginneken et al. The Health Service Initiative: supporting the construction of a framework for cross-border health care. En *Cross-border Health Care in the European Union. Mapping and analysing practices and policies*. European Observatory on Health Systems and Policies. 2011; 1-23.

9. A Crooks V, Kingsbury P, Snyder et al. What is known about the patient's experience of medical tourism? A scoping review. *BMC Health Services Research*. 2010; 10: 266-278.

10. Turner L. Beyond “medical tourism”: Canadian companies marketing medical travel. *Globalization and Health*. 2012; 8-16.

11. Moreira M.A. Una visión toulminiana respecto a la disciplina investigación básica en educación en ciencias: el rol del foro institucional. *Ciência & Educação*. 2005; 11, 2: 181-190.

12. Directiva 2009/120/CE de la Comisión. *Diario Oficial de la Unión Europea* n°242, de 15 de septiembre de 2009.

13. Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*. BOE n° 311, de 28 de noviembre de 2001.

14. Reglamento(CE) N°1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial de la Unión Europea* n° 324, de 10 de diciembre de 2007.

15. Real Decreto 477/2014. *BOE* n° 144, de 14 de junio de 2014.

16. Real Decreto 1345/2007. *BOE* n° 267, de 7 de noviembre de 2007.

17. Langer R, Vacanti JP, *Tissue Engineering*. *Science*; 1993; 260:920-926.

18. Campos A. El trasplante de médula ósea y el desarrollo de los nuevos medicamentos celulares y tisulares. En Campos A. *La célula y el tejido como medicamento. De la médula ósea al sistema nervioso. Lección inaugural. Apertura Curso Académico 2013-2014*. Universidad de Granada.

19. Campos A. *Cuerpo, Histología y Medicina. De la descripción microscópica a la ingeniería tisular*. Real Academia Nacional de Medicina; 2004.

20. Kaul H, Ventikos Y. On the Genealogy of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Tissue Engineering*; 2014. 1-14.

21. Hanefeld J, Smith R, Horsfall D et al. What Do We Know About Medical Tourism? A review of the Literature With Discussion

- of Its Implications for the UK National Health Service as an Example of a Public Health Care System. *Journal Travel of Medicine*; 2014;6: 410-417.
22. Hanefeld J, Horsfall D, Smith R. Medical Tourism: A Cost or Benefit to the NHS?. *PLoS One*; 2013; 8: 1-8.
 23. Kiatpongsan S, Sipp D. Monitoring and Regulating Offshore Stem Cell Clinics. *Science*; 2009. 323: 1564-1565.
 24. Taylor-Weiner H, Zivin JG. Medicine's Wild West- Unlicensed Stem-Cell Clinics in the United States. *N Engl J Med*; 2015; 373; 11: 385-387.
 25. Amariglio N, Hirschberg A, Scheithauer BW et al. Donor-Derived Brain Tumor Following Neural Stem Cell Transplantation in an Ataxia Teleangiectasia Patient. *PLoS Med*; 2009. 6(2): 221-231.
 26. Murdoch CE, Scott CT. Stem Cell Tourism and the Power of Hope. *The American Journal of Bioethics*; 2010.10(5): 16-23.
 27. Charo AR. On the Road (to a Cure) - Stem-Cell Tourism and Lessons for Gene Editing. *N Engl J Med*; 2016. 374; 10: 901-903.
 28. Meza RB. La política como vocación. *Estudios Políticos*; 2001. 26: 93-106.
 29. Pereda C. Sobre el concepto de *phrónesis*. *Thémata. Revista de Filosofía*; 2002. 28: 175-186.
 30. Navarro J. El principio de incertidumbre de Heisenberg. ¿Existe el mundo cuando no lo miras? *R.B.A National Geographic*; 2015.
 31. Gracia D. La construcción de valores. En Gracia D. *La cuestión del valor*. Real Academia de Ciencias Morales y Políticas; 2011.
 32. Gomá J. *Ingenuidad aprendida*. Galaxia Gutenberg; 2011.
 33. Conill J. Globalización y Ética económica. *Papeles de Ética, Economía y Dirección*; 2005. 5: 1-8.
 34. Maren N, Kristin A, Randy W et al. Mass Media Health Communication Campaigns Combined with Health-Related Product Distribution. *J Prev Med* 2014;47(3): 360-371.
 35. Ortega y Gasset J. *El tema de nuestro tiempo*. Revista de Occidente, S.A. Madrid, 1956.
 36. Pierret C, Friederichsen P. Stem Cells and Society: An Undergraduate Course Exploring the Intersections among Science, Religion and Law. *Life Sciences Education*; 2009. 8: 79-87.
 37. Wilson AC, Gonzalez LL, Pollock JA. Evaluating Learning and Attitudes on Tissue Engineering: A Study of Children Viewing Animated Digital Dome Shows Detailing the Biomedicine of Tissue Engineering. *Tissue Engineering*; 2012. 18: 576-586.
 38. Delors J, Al Mufti I, Amagi et al. *La educación encierra un tesoro*. Santillana. Ediciones UNESCO. Madrid; 1996
 39. Cortina A. *Ética mínima*. Tecnos (Anaya). 2010.
 40. Salguero M. La solidaridad y sus paradojas. *Derechos y Libertades*; 2011. 24: 119-146.

Enfermedad de Tarui: revisión y perspectivas bioinformáticas

Tarui's disease: Review and bioinformatic perspectives

Jose Arturo Molina Mora, Sergio Jiménez Morgan
Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Universidad de Costa Rica.

Resumen

La enfermedad de Tarui es una enfermedad autosómica recesiva ocasionada por una deficiencia de la actividad fosfofructoquinasa (FFQ) en el músculo esquelético, una enzima clave de la glicólisis. Dicha alteración tiene como consecuencia directa la imposibilidad de producir energía a partir del consumo de la glucosa circulante en sangre o la que se almacena en forma de glucógeno. Debido a esto, clásicamente los síntomas incluyen intolerancia al ejercicio, mialgias, debilidad y fatiga, pero, pese a que se han detectado al menos 22 mutaciones del gen que codifica por la enzima, pacientes con las mismas variantes han mostrado diferente sintomatología, lo cual establece una relación genotipo-fenotipo poco clara. Mecanismos regulatorios, y no solamente la enzima misma, pueden explicar la modulación de la actividad FFQ y con ello la diversidad evidenciada con los cerca de 100 casos reportados con la enfermedad de Tarui. El diagnóstico definitivo se obtiene de la evaluación de biopsia de músculo, pruebas inmunohistoquímicas, medición de la actividad de la enzima y prueba de glucosa exógena previo a ejercicio. Actualmente no existe un tratamiento específico y normalmente se brinda terapia específica para los síntomas. Nuevas perspectivas con el uso de herramientas bioinformáticas tienen el potencial de estudiar la enzima FFQ con análisis estructurales de la molécula o bien, los diversos sistemas biológicos que la regulan.

Abstract

Tarui's disease is an autosomal recessive disorder caused by a deficiency of phosphofructokinase activity (FFQ) in skeletal muscle, a key enzyme of glycolysis. This alteration has a direct consequence of the impossibility of producing energy from the consumption of circulating-blood glucose or stored as glycogen. Because of this, classically symptoms include exercise intolerance, muscle pain, weakness and fatigue, but despite that have been detected at least 22 mutations of the gene coding for the enzyme, patients with the same variants have shown different symptoms, which establishes a genotype-phenotype relationship unclear. Regulatory mechanisms, and not only the enzyme itself, can explain the modulation of the FFQ activity and thus the diversity evidenced with about 100 cases reported Tarui's disease. The definitive diagnosis is obtained from the evaluation of muscle biopsy, immunohistochemistry, measurement of enzyme activity and exogenous glucose test prior to exercise. Currently there is no specific treatment and therapy usually is given for symptoms. New perspectives using bioinformatic tools have the potential to study the FFQ enzyme with structural analysis of the molecule or the various biological systems that regulate it.

Palabras clave: Enfermedad de Tarui, Glucogenosis tipo VII, miopatía metabólica, fosfofructoquinasa.

Keywords: Tarui's disease, glycogenosis type VII, metabolic myopathy, phosphofructokinase.

INTRODUCCIÓN

El monosacárido de glucosa es la fuente primaria de producción de energía de las células y que puede ser almacenado en forma de polímeros de glucógeno, esencialmente en el hígado y el músculo esquelético. Diferentes mecanismos en redes bioquímicas describen el balance entre la glucosa disponible para producción de energía o para su almacenamiento. Cuando es requerida, por ejemplo en el ayuno o durante el ejercicio, la glucosa puede ser obtenida de forma directa de la ingesta de alimentos o de la degradación del glucógeno (glucogenólisis) a glucosa-1-fosfato. La producción de energía se da a través de la glicólisis, en la que la glucosa es degradada hasta producir ATP (adenosina trifosfato), la

moneda energética, además de piruvato y NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina) que pueden continuar a ciclo de Krebs o a respiración anaerobia. Cuando las necesidades energéticas han sido satisfechas, diversos mecanismos regulatorios permiten el almacenamiento del exceso de glucosa en forma de glucógeno, en un proceso llamado gluconeogénesis (1,2).

La gluconeogénesis, la glucogenólisis y la glicólisis son procesos celulares que son mediados por enzimas y altamente regulado, tanto por los mismos carbohidratos como por otros tipos de moléculas. La deficiencia parcial o total de la actividad enzimática en las reacciones de dichos procesos se constituyen como un grupo de trastornos del metabolismo llamados enfermedades del

almacenamiento del glucógeno (EAG) (2). Si la afectación de estos procesos es de forma directa en las enzimas, la enfermedad se denomina enfermedad primaria, mientras que si la alteración es por medio de reguladores de su metabolismo, entonces se llaman enfermedades secundarias (3).

ENFERMEDAD DE TARUI

Enfermedades del almacenamiento del glucógeno

Las enfermedades primarias del almacenamiento del glucógeno, también conocidas como glucogenosis, corresponden a una categoría única de trastornos metabólicos hereditarios que se describieron inicialmente a principios del siglo XX. Fueron uno de los primeros errores innatos del metabolismo con deficiencia enzimática en ser identificados y que afectan la homeostasis energética del músculo esquelético, corazón, hígado y, con menor frecuencia, el sistema nervioso central (1). Usualmente, presentan un patrón de herencia autosómico recesivo y su incidencia se estima en 1 caso por cada 20,000-43,000 nacimientos vivos (4,5).

Dadas las variaciones que existen en la edad de inicio, los síntomas, la morbilidad y la mortalidad de las EAG, la clasificación de estos trastornos ha sido motivo de discusión constante (3). Sin embargo, las propuestas clásicas se han enfocado en realizar la agrupación de acuerdo a la deficiencia enzimática y, en la medida de lo posible, el patrón clínico. Se han identificado al menos 14 tipos de glucogenosis (4), cuyos efectos primordialmente se ven reflejados en los tejidos hepático y muscular esquelético (6), y en menor grado miocardio, sistema nervioso central y riñones (7).

En la tabla 1 se muestra la clasificación de las EAG, según la enzima afectada y el compromiso hepático o muscular. Como se mencionó previamente, algunos casos específicos pueden afectar bazo, corazón y otros órganos (4). Por ejemplo, cuando hay ausencia de actividad maltasa ácida en la enfermedad de Pompe (Tipo II) hay afectación de casi todos los órganos, incluyendo al corazón (2,4).

Respecto a la incidencia de las EAG según su clasificación, el tipo I es la más frecuente, con el 90% de las EAG. De las que afectan tejido muscular, la enfermedad de Tarui es la segunda más frecuente, solo superada en frecuencia por la enfermedad de McArdle (3). Los principales síntomas de las EAG que afectan músculo incluyen intolerancia al ejercicio, debilidad muscular, mialgias, calambres y mioglobinuria, y su aparición puede variar tanto en edad como en intensidad. Así, el pronóstico de cada paciente con una EAG dependerá de la enzima que se encuentre afectada y el tipo de alteración que tiene, aunque es común que en las presentaciones infantiles los pacientes fallezcan en el transcurso de los primeros años de vida; por el contrario, en otros pacientes la presentación puede ser tardía o no dar otros síntomas aparte de la intolerancia al ejercicio (7).

Aspectos generales de la enfermedad de Tarui

La enfermedad de Tarui es el tipo VII de las glucogenosis. Tiene consecuencias predominantemente en músculo esquelético debido a una deficiencia en la actividad FFQ celular. La FFQ constituye una enzima clave en el proceso de glicólisis, ya que se encarga de la conversión de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato en forma irreversible (8). De esta manera, en la enfermedad de Tarui hay un aporte comprometido de energía a partir de la glucosa, lo cual es crítico en condiciones como el ejercicio.

Estructuralmente, la FFQ es un tetrámero que derivada de tres *loci* genéticamente distintos y que codifica por isoformas de músculo, hígado, y plaquetas. En músculo y el hígado, las FFQs son homotetrámero de 4 subunidades M y 4 subunidades L, respectivamente, mientras que los eritrocitos contienen tanto subunidades L y M (3). En el caso de las plaquetas, las subunidades son tipo P, aunque también se conoce como tipo F (de fibroblastos). Los genes de las subunidades tipos M,

L y P se ubican en los cromosomas humanos 12, 21 y 10, respectivamente (9).

Históricamente, la primera descripción de esta patología la realizaron Tarui y colaboradores (1965), en tres parientes japoneses (una mujer de 20 años de edad y dos hombres de 23 y 27 años de edad), cuyos padres eran primos. Sus manifestaciones clínicas fueron descritas como facilidad para fatigarse, debilidad y rigidez muscular posterior a ejercicios intensos o prolongados, sin elevación de lactato en sangre durante el test de isquemia y uno de ellos con mioglobinuria post-ejercicio (1,0). En los años posteriores y hasta la actualidad, los reportes alcanzan al menos 100 casos de pacientes con esta enfermedad, con una incidencia particular en personas con ascendencia judía Ashkenazi, en las zonas de Europa, Japón y Estados Unidos (7,8,1,1). En niños, la ocurrencia de la enfermedad de Tarui fue de al menos una docena de casos entre 1987 y 2008 (1,2).

En los años más recientes, se destacan dos reportes de los años 2012 y 2015. El caso reportado en 2012, una mujer marroquí de 41 años de edad con deficiencia de FFQ presentó debilidad muscular lentamente progresiva desde la infancia, sin episodios de rhabdomiólisis o anemia hemolítica, pero la exploración física mostró una leve atrofia de los muslos. La biopsia de músculo reveló almacenamiento masivo de glucógeno en la mayoría de las fibras musculares y una actividad FFQ en el músculo totalmente ausente (1,3). Asimismo, Auranen y colaboradores (2015) reportaron el caso de dos hermanos con la enfermedad de Tarui con manifestaciones clínicas clásicas y formación de acumulos de poliglucosanos y una mezcla compleja de proteínas en la biopsia de músculo (1,4).

Fisiopatología

En la enfermedad de Tarui, la deficiencia de la actividad FFQ tiene como consecuencia inmediata el bloqueo de la glicólisis. Esta ruta metabólica es la encargada de oxidar la glucosa hasta piruvato, con el objetivo de obtener energía para la célula. El catabolismo de glucosa consiste de 10 reacciones enzimáticas acopladas que permiten la obtención de ATP, NADH y dos moléculas de piruvato, proceso que ocurre en el citoplasma celular. En dependencia de las condiciones de oxigenación, el piruvato puede dirigirse a diversas rutas metabólicas para producir más energía (1).

Las reacciones que componen la glicólisis se agrupan en 2 fases metabólicas, una primera de gasto de energía y otra de producción de energía. En la primera fase, la reacción inicial consume una molécula de ATP para fosforilar la glucosa a glucosa-6-fosfato para luego convertirla en fructosa-6-fosfato. Una segunda molécula de ATP se requiere para el paso de una segunda fosforilación de la molécula da origen la fructosa-1,6-bisfosfato, gracias a la enzima FFQ. Otras dos reacciones terminarían de originar 2 moléculas de gliceraldehído-3-fosfato, producto final de la fase de gasto de energía (1,5).

En la fase de producción de energía, la oxidación de cada gliceraldehído-3-fosfato permite la producción de NADH a partir del NAD⁺, y posteriormente la producción de 2 moléculas de ATP y el piruvato, con la acción final de la piruvato quinasa. Así, el balance entre consumo y producción, se obtiene un balance a favor energético de 2 ATP y 2 NADH, así como 2 moléculas de piruvato (1).

En la respiración celular aerobia, que ocurre en mitocondria, los electrones del NADH son cedidos a la cadena de transporte de electrones, los cuales alteran el potencial de membrana al mover H⁺ al espacio intermembrana de la mitocondria, y su paso de regreso por el complejo ATP-sintasa logra la producción de más ATP, además de la producción de ATP y NADH que se obtiene del piruvato que ingresa a ciclo de Krebs. En respiración celular anaerobia, procesos de fermentación pueden obtener alternativamente energía del piruvato, con la producción de lactato gracias a la deshidrogenasa láctica. El transporte de lactato desde el músculo hacia hígado puede hacer que se reconvierta a piruvato y luego a glucosa, la cual puede ser llevada de nuevo a músculo como fuente de energía (proceso conocido como ciclo de Cori).

En la enfermedad de Tarui, la fase inicial de la glicólisis arranca hasta la producción de fructuosa-6-fosfato, con el consumo de ATP, pero la actividad alterada de la FFQ impide que se continúe hasta la fase de producción de energía, ni la producción de piruvato ni NADH, lo cual aún compromete más la continuación de procesos como la respiración celular (condiciones aeróbicas) o fermentación (condiciones anaerobias) para obtener más energía. De esta forma, la deficiencia de la FFQ altera por completo la disponibilidad de energía de las células por la caída en la producción de ATP, piruvato y poder reductor en forma de NADH (16).

Además, dado que los carbohidratos y los ácidos grasos son la principal fuente de energía para la contracción y relajación muscular, la deficiencia enzimática imposibilita que el glucógeno almacenado en el músculo o bien la glucosa circulante

en sangre puedan ser usadas como fuentes de energía, por lo que la vía metabólica se desplaza hacia la lipólisis (17). Sin embargo, esta vía no logra compensar de forma equivalente a la glicólisis, lo que compromete la producción de energía suficiente durante el ejercicio físico. El inadecuado funcionamiento de la FFQ también conlleva al depósito o almacenamiento excesivo de glucógeno intracelular, lo cual provoca compresión y desplazamiento de la maquinaria contráctil de las fibras musculares, con las manifestaciones clásicas de la enfermedad a nivel muscular (18). Sin embargo, la FFQ no solamente es de relevancia en esta enfermedad metabólica, sino que en conjunto con otras enzimas, ha sido estudiada en otros tipos de padecimientos como lo son la obesidad, diabetes y cáncer (19), por lo que su deficiencia también puede inducir padecimientos paralelos en los pacientes.

Tipo	Enzima afectada	Afectación muscular	Afectación hepática
0	Glucógeno sintasa hepática	-	✓
I (enfermedad de Von Gierke)	Glucosa-6-fosfatasa	-	✓
II (enfermedad de Pompe)	Maltasa ácida	-	✓
III (enfermedad de Cori)	Enzima desramificante	-	✓
IV (enfermedad de Andersen)	Enzima ramificante	-	✓
V (enfermedad de McArdle)	Fosforilasa de glucógeno, muscular	✓	-
VI (enfermedad de Hers)	Fosforilasa de glucógeno, hepática	-	✓
VII (enfermedad de Tarui)	Fosfofructoquinasa muscular	✓	-
VIII	Fosforilasa-b-quinasa	-	✓
IX	Fosfoglicerato quinasa	✓	✓
X	Fosfoglicerato mutasa	✓	-
XI	Lactato deshidrogenasa	✓	-
XII	Aldolasa	✓	-
XIII	β-enolasa	✓	-
XIV	Fosfoglucomutasa	✓	-

Tabla 1 . Clasificación de las enfermedades del almacenamiento del glucógeno.

Fuente: Elaboración propia.

A nivel sanguíneo, la glicólisis deficiente muestra, típicamente, cerca de un 50% de actividad enzimática FFQ, respecto a pacientes sin la enfermedad. Esta reducción del flujo glicolítico puede limitar gravemente el suministro de energía y resultar en hemólisis, comúnmente reportada en la enfermedad de Tarui (3,2,0). Entre 2001 y 2003, Ronquist y Waldenstro (2001) observaron que los eritrocitos de las personas con la enfermedad de Tarui presentaban niveles elevados de calcio intraeritrocitario. Mostraron que en la enfermedad se produce un aumento de la hidrólisis de ATP con una acelerada extrusión del calcio ATP-dependiente, sugiriendo un aumento de la permeabilidad de calcio en la membrana celular. Los mismos autores exponen que este fenómeno ocurre de forma paralela a la deficiencia de la FFQ y que, a nivel sanguíneo, explicaría la rigidez de la membrana y hemólisis de las células del sistema reticuloendotelial, mientras que en músculo llevaría a fatiga debido a la regulación disfuncional del calcio, posiblemente más que la deficiencia misma de la enzima (11,20).

Manifestaciones clínicas

Los pacientes diagnosticados con la enfermedad de Tarui pueden presentar miopatías y hemólisis, ya sea como condiciones únicas o en combinación, o bien podrían cursar asintomáticos (8,21). La miopatía se manifiesta como un conjunto de síntomas que abarcan desde debilidad leve hasta intolerancia marcada al ejercicio, calambres musculares, disminución de reflejos tendinosos y niveles séricos elevados de enzimas musculares (21). No obstante, en algunas personas la evolución y síntomas son atípicos pese a que se detecten las mismas variantes de la enzima, lo cual se traduce en una heterogeneidad fenotípica (Nakajima, Raben, Hamaguchi, & Yamasaki, 2002). Debido a esto, se han propuesto al menos cuatro presentaciones clínicas de la enfermedad de Tarui, resumidas en la tabla 2.

Tipo	Descripción básica
I (forma clásica)	Intolerancia al ejercicio, mialgias y mioglobinuria
II (forma infantil grave)	Hipotonía, retraso en el desarrollo, características dismórficas, úlceras corneales, miopatía progresiva, cardiopatía, e insuficiencia respiratoria que lleva a la muerte en la infancia
III (forma de aparición tardía)	Miopatía proximal fija y de aparición en la quinta década
IV (forma hemolítica)	Anemia hemolítica no esferocítica y sin síntomas musculares

Tabla 2. Presentaciones clínicas de la enfermedad de Tarui

Fuente: Elaboración propia.

Algunos pocos casos reportados han mostrado alteraciones del crecimiento y manifestaciones con una desregulación del metabolismo del ácido úrico, así como afectación del sistema nervioso central y del corazón (5,23). Finsterer y colaboradores (2002) describieron el caso de una paciente con enfermedad de Tarui que desarrolló epilepsia focal (posiblemente consecuencia de acúmulo de glucógeno en cerebro) y síntomas clásicos a nivel muscular, disminución de reflejos tendinosos, test anormal de isquemia en antebrazo, electromiograma con compromiso miogénico y biopsia muscular anormal. Adicionalmente, la paciente presentaba compromiso cardíaco, que se manifestó inicialmente por dolor torácico y luego con un electrocardiograma que mostró bajo voltaje (atribuido al depósito de glucógeno). Además, se evidenció un engrosamiento del miocardio sin asociación con ninguna cardiopatía, por lo cual dicho hallazgo fue atribuido también al depósito de glucógeno (21). Finsterer y Stöllberger (2008) dieron seguimiento a esta paciente, a quien se le detectó un engrosamiento progresivo de las válvulas cardíacas como consecuencia

del depósito de glucógeno, lo cual constituyó el primer caso clínico reportado en la literatura de dicha alteración en una persona con enfermedad de Tarui (23).

Diagnóstico

Dado que la afectación muscular esquelética en la enfermedad de Tarui se caracteriza por síntomas poco específicos, sin evidencias francas de la enfermedad ni diferenciales de otros padecimientos, el diagnóstico de esta miopatía metabólica puede ser difícil. Dependiendo de la presentación clínica y de la intensidad con la que ocurra, los pacientes pueden no presentar hallazgos objetivos y claros en el examen neurológico, electromiografía y exámenes de rutina de laboratorio, los cuales con cierta frecuencia se describen como normales (4). En muchos casos, la sospecha de la enfermedad de Tarui se da por exclusión de otros padecimientos, y pese a que los síntomas podrían ser leves e inespecíficos el diagnóstico correcto es importante para prevenir posibles complicaciones graves, como mioglobinuria y fallo renal (4,24).

Las primeras sospechas suelen provenir de las crisis agudas reversibles, que se manifiestan principalmente en forma de fatiga prematura y contracturas musculares, con frecuencia acompañadas de rabdomiolisis con elevada creatina quinasa en suero y, en ocasiones, por mioglobinuria (2). También es posible observar ictericia, niveles elevados de creatina quinasa (CK), hiperuricemia, reticulocitosis y aumento de la bilirrubina sérica. La forma de aparición tardía se presenta con calambres y mialgias en la edad adulta, aunque la capacidad de ejercicio ya es baja desde la infancia (3,9). Los pacientes con la forma infantil comúnmente mueren durante el primer año de vida y podrían mostrar signos de artrogriposis y retraso mental (9).

Ante las sospechas clínicas, el diagnóstico de la glucogenosis de tipo VII se basa especialmente en la biopsia del músculo, que muestra la acumulación de glucógeno asociado con la deficiencia de FFQ por histoquímica (3). Las biopsias musculares a menudo muestran vacuolización interna con el almacenamiento de glucógeno, que pueden ser reveladas por tinción de PAS evidenciando el depósito en el sub-sarcolema y áreas intra-miofibrilares, aunque en algunos casos los aspectos morfológicos podrían ser casi normales (3,25). Además, también se pueden tener hallazgos de valores de glucosa-1-fosfato, glucosa-6-fosfato, y la fructosa-6-fosfato altos en el tejido, mientras que se reducen la fructosa-1,6-bisfosfato y triosa-fosfato (7)(9). La presencia de depósitos de poliglucosanos se ha informado en algunos casos de deficiencia de FFQ, especialmente en pacientes de edad avanzada y que podría ser secundaria al acúmulo de glucosa-6-fosfato, activador de la sintasa de glucógeno. Esta característica de acumulación de poliglucosanos es característica típica de la deficiencia de la enzima de ramificación de la EAG tipo IV, por lo que debe también realizarse diagnóstico diferencial al respecto (13).

Las pruebas para evaluar la presencia de FFQ por histoquímica suelen ser negativas y tradicionalmente ha sido un factor diagnóstico clave para explicar la enfermedad (2). Sin embargo, recientemente se reportó el caso de dos hermanos con la enfermedad de Tarui donde las pruebas inmunohistoquímicas mostraron cantidades normales de la FFQ, y la mutación identificada no redujo la cantidad de enzima en general, pero sí reducía severamente su actividad enzimática. Los resultados indicaron que la histoquímica convencional utilizada anteriormente como "estándar de oro" para el diagnóstico de esta glucogenosis debe interpretarse con cautela y es requerido realizar las mediciones de actividad enzimática. Los resultados de pruebas de genética molecular, como las modalidades de pruebas definitivas para el diagnóstico (14).

Dado que algunas otras glucogenosis que afectan músculo podrían tener síntomas y hallazgos de laboratorio similares, la prueba de ingesta de glucosa o sacarosa, o bien la inyección de glucagón previo al ejercicio, es de carácter diferencial., particularmente de la enfermedad de McArdle. Ante la administración del azúcar antes del ejercicio muscular, los síntomas de los pacientes con enfermedad de Tarui muestran que los síntomas

se exacerban (Haller & Vissing, 2004), pero la administración exógena de azúcar permite mejorar la tolerancia al ejercicio en pacientes con enfermedad de McArdle (22, 27). Además, con un mecanismo similar a la administración de azúcar, según refieren Haller y Lewis (1991), las comidas altas en carbohidratos pueden exacerbar la intolerancia al ejercicio en los pacientes con enfermedad de Tarui, por una parte porque su condición les impide utilizar la glucosa o el glucógeno en la producción de ATP, y por otra parte porque el aumento de la glicemia en sangre bloquea la disponibilidad de ácidos grasos libres y cetonas que el músculo podría utilizar como fuente de energía (Haller & Lewis, 1991). A dicho bloqueo en el uso de esa fuente alternativa de combustible energético, común e indispensable en los pacientes con enfermedad de Tarui, se le conoce como fenómeno *out of wind* (17).

Además, existen pruebas de secuenciación genética para las glucogenosis, que pueden ser aplicadas a pacientes cuyos padres o familiares ya han sido diagnosticados con alguna de estas enfermedades. Las muestras pueden ser obtenidas de vellosidades coriónicas o líquido amniótico (7).

Tratamiento

Actualmente no existe un tratamiento específico para la enfermedad de Tarui, pero entre las recomendaciones generales para estos pacientes se encuentran evitar ejercicio físico de alta intensidad (5), así como una dieta alta en aminoácidos de cadena ramificada y suplementación con vitamina B6, con el fin de promover reparación muscular (7). A diferencia de otras glucogenosis, para las cuales se han desarrollado terapias génicas (por ejemplo, enfermedad de Pompe o glucogenosis tipo II), en el caso de la enfermedad de Tarui el tratamiento continúa siendo paliativo (29).

Aspectos genéticos y moleculares asociados a la enfermedad

Como fue mencionado anteriormente, existen tres isoformas de la FFQ humana en músculo, hígado, y plaquetas, codificadas por los genes *pkf-m* en el cromosoma 12, *pkf-l* en el cromosoma 21 y *pkf-p* en el cromosoma 10, respectivamente (9). El gen *pkf-m* humano es un gen de copia única que contiene aproximadamente 30 kb de ADN genómico y 24 exones (30).

Las primeras evidencias de que las mutaciones de la isoforma muscular de la FFQ era causales de la enfermedad de Tarui provino de estudios de Western Blot, mostrando bandas inmunorreactivas a pesar de la pérdida de la actividad enzimática en cultivo de células de músculo de pacientes con la enfermedad (31).

Fue hasta 1990 que la primera mutación en el gen *pkf-m* fue descrita, con un patrón de herencia autosómica recesiva y en uno de los tres pacientes que fueron reportados con la enfermedad, en 1965, provocando una delección en el marco de 75 pb que se encuentra en un dominio probable del sitio de activación de la enzima con AMP/ADP (Nakajima et al., 1990).

Desde entonces, se han reportado al menos 22 mutaciones, incluidas mutaciones sin sentido, mutaciones silentes y mutaciones de corte y empalme (Brüser, Kirchberger, & Schöneberg, 2012; Musumeci et al., 2012; Nakajima et al., 2002; Nichols et al., 1996; Sherman et al., 1994; Tsujino et al., 1994; Vives-Corróns, Koralkova, Grau, Mañú Pereira, & Van Wijk, 2013). Sin embargo, aunque muchos de los pacientes con las mutaciones descritas tienen síntomas clásicos de la enfermedad, la gravedad y manifestaciones variadas son comunes, por lo que no se ha reconocido una clara correlación genotipo-fenotipo en la enfermedad de Tarui (13).

De acuerdo con Raben y Sherman (1995), la mutación más frecuente es un defecto en el sitio de empalme 5' del intrón 5, resultando en una delección en el marco de la secuencia de exón 5, que en su momento representaba el 68% de los alelos mutantes de personas judías Ashkenazi, mientras que, en la misma pobla-

ción, la delección de una base en el exón 22, representaba alrededor del 27% de las mutaciones (36).

Otras de las mutaciones identificadas corresponde a un caso de tres hermanos de una familia sueca con sintomatología muy distinta y en la que, para dos de ellos, se presentó un cambio de base en el último nucleótido del exón 13 (G1127A), resultando una retención parcial del intrón 13. Además, en otro caso se identificó un cambio de una base en el intrón 16 (G64A), resultando en la retención parcial del intrón 16 (24)

Más recientemente, en 2012, se reportaron 5 mutaciones no detectadas previamente. La primera, una mutación intrónica homocigota (IVS6-2 A>C), reveló una activación de dos sitios de empalme críticos en el exón 7, dando lugar a dos especies de ARN mensajeros, uno con una delección de 5 pb y el otro con una delección de 12 pb. Esta segunda variante de ARNm condujo a una delección en marco de cuatro aminoácidos en el péptido. Además, otra mutación intrónica (IVS5-3 A>G) generó la inserción de AG entre el exón 5 y el exón 6, que condujo a un desplazamiento del marco de lectura y una terminación prematura del transcrito. También se describieron tres nuevas mutaciones sin sentido (D591A, S180C, G57V) y que involucró residuos altamente conservados y cuyas predicciones en modelos estructurales indican efectos negativos sobre la estructura o función de la proteína (9).

En 2015, se reportó el caso de dos hermanos con la enfermedad de Tarui, en la que se detectó el cambio homocigoto, p.R39Q, en el exón 4. Anteriormente, diferentes mutaciones que afectan a la misma posición habían sido descritas con un cambio de arginina a prolina en estado homocigoto, o alanina en heterocigoto. Al realizar los estudios, se comprobó que la mutación inactivaba la enzima y presentaba entre un 3% -4% de actividad residual (14).

Pese a la existencia de reportes de mutaciones, en algunas de las formas infantiles presentadas con afectación multisistémica, no está completamente dilucidado el mecanismo molecular por el que la enfermedad ocurre, ya que no se han detectados mutaciones en el gen de la FFQ muscular (13).

POTENCIAL DE LA BIOINFORMÁTICA PARA EL ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD

Con el gran número de algoritmos y modelos matemático-computacionales disponibles para el estudio de las moléculas, la bioinformática se perfila como un elemento clave para el entendimiento de las enfermedades en las que no existe una clara asociación entre el genotipo y el fenotipo, como lo es la enfermedad de Tarui. En este sentido, dos áreas específicas de la bioinformática son de interés: la modelación de estructuras y la biología de sistemas.

Respecto al análisis de secuencias, un elemento básico para el análisis de estructuras, la caracterización de las FFQ humanas ha permitido determinar que las FFQ muscular y hepática comparten 68,6% de identidad de secuencia de aminoácidos, mientras que la muscular y la plaquetaria un 70,3%, y la hepática y la plaquetaria comparten el 66,6% (3,7). Además, modelos estructurales 3D de las isoformas plaquetaria y muscular han sido recientemente determinados. La primera estructura del tetramero de la FFQ de la isoforma de plaquetas humanas, en complejo con ATP-Mg21 y ADP, se publicó en 2015 (1,9). Un año antes, Kloos y colaboradores (2014), lograron la cristalización y un análisis preliminar de la FFQ muscular humana, en el que verificaron que la enzima se disocia en un dímero (3,8). Estos avances brindan la oportunidad de nuevas alternativas para entender la regulación alostérica y las bases moleculares de los mecanismos asociados a los activadores o inhibidores de la función de la enzima. Además, en la enfermedad de Tarui vista como glucogenosis primaria, se lograría la evaluación y modelado del efecto de las mutaciones de la enzima y cómo contribuyen a la pérdida de su actividad. Adicionalmente, dado que las mutaciones en la FFQ también han sido asociadas a otros tipos de padecimientos como diabetes y malignidad, estos posibles estudios no se limitarían únicamente a la enfermedad de Tarui, sino que en general permitirían una mejor comprensión de todos los mecanismos biológicos en los que la enzima participa.

Como ha sido verificado en diversos casos reportados, ya sea por la existencia de las mismas mutaciones en la FFQ con diferente sintomatología entre pacientes, o bien, en el caso de la enfermedad vista como glucogenosis secundaria, el entendimiento de la enfermedad de Tarui es de alta complejidad. Ofrece un desafío para su estudio que comprende mecanismos regulatorios que no podrían ser explicados únicamente con el estudio de la estructura tridimensional de forma aislada. Es por ello que una segunda área de la bioinformática de interés para el estudio de esta EAG es la biología de sistemas, con la cual se evalúan propiedades que únicamente pueden emerger a partir del análisis de los sistemas biológicos vistos como un todo y no como elementos individuales.

Un ejemplo del potencial de la biología de sistemas puede ser considerado con el modelo matemático presentado por Lambeth y colaboradores, el cual representa dinámicamente la vía de la glicólisis hasta la producción de energía y lactato en el músculo esquelético de mamíferos. El modelo se construyó con parámetros cinéticos obtenidos a partir de la literatura y con restricciones estequiométricas, balance de masa y con una termodinámica basada en la ley de acción de masas combinada. La topología general es presentada en la Figura 1 (los números en los círculos rojos indica un paso enzimático en el orden usual de la glicólisis). Los mismos autores mencionan que el principal resultado del análisis fue el acoplamiento de la vía con la red de regulación de la ATPasa, haciendo que el sistema en estado estable sea más sensible a la actividad de ATPasa externa y no a mecanismos internos de la vía, lo cual permite la interconexión con otras vías y explica cómo los cambios en la glicólisis logran tener un efecto en vías alternativas para modular la cinética del ATP en el músculo esquelético (39).

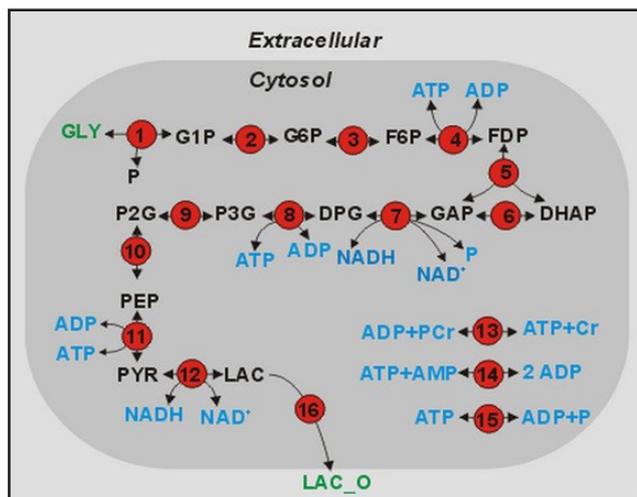


Figura 1. Topología del modelo de la glicólisis en músculo esquelético. (Imagen del repositorio JWS Online (<http://jij.biochem.sun.ac.za/>) del trabajo de Lambeth & Kushmerick, 2002).

Con este modelo es posible realizar simulaciones en línea, incluyendo la enfermedad de Tarui (<http://jij.biochem.sun.ac.za/models/?id=lambeth>). Inicialmente, utilizando el sistema de ecuaciones diferenciales planteado, la constante de reacción del paso catalizado por la FFQ se redujo a la mitad (V_{ffq}, de 0.056 a 0.028), con el objetivo de valorar el efecto en la producción de los metabolitos finales del modelo, NADH (el valor bajó a un 9% del normal) y piruvato (el valor bajó a un 60% del normal). Estos dos metabolitos son particularmente relevantes en el contexto de la fisiopatología de la enfermedad, pues el bloqueo de la glicólisis impide la producción de éstos y su continuidad a rutas metabólicas (aeróbicas o anaeróbicas), lo cual compromete la disponibilidad de energía en los tejidos, principalmente músculo. Si existiesen otras alternativas para modular la producción, podría usarse como estrategia para solventar la necesidad energética ante la deficiencia de la FFQ, y justamente las predicciones *in silico* del modelo matemático propone alternativas para ello. Al realizar el análisis de sensibilidad en el modelo de ecuaciones diferenciales

y con el objetivo de determinar los puntos del modelo que permitan aumentar los valores de dichos productos (ver tabla 3), se obtuvo que los pasos del modelo donde actúan la piruvato quinasa (PQ, paso V11) y la deshidrogenasa láctica (DHL, paso V12) fueron los más representativos para reponer los valores del NADH y piruvato.

En la tabla 3, los valores extremos positivos de los coeficientes de control (rojo, paso V1) indican que la producción de NADH y piruvato se favorece al incrementar la reacción asociada, mientras que los valores extremos negativos (verde) son los que más consumen dichas moléculas. Aunque algebraicamente aumentar los valores del paso V1 significaría un aumento de los productos, el bloqueo del paso de la FFQ no tendría efecto. Así, la inhibición de las reacciones V11 y V12 supondría la disminución del consumo de NADH y piruvato. En la simulación, la inhibición al 50% de cada una de las actividades en la respectiva constante de reacción, muestra un aumento de NADH al 70% del normal (enfermo era 9%) y un 95% de piruvato respecto al normal (enfermo era 60%).

Flujo	Coeficientes de control	
	NADH	PYR
V1	0.72654002	0.28313945
V2	0.16379237	0.06383142
V3	0.0155692	0.00606746
V4 (FFQ)	0.62511484	0.24361311
V5	0.03698243	0.0144124
V6	0.00202692	0.00078991
V7	0.0050729	0.00197696
V8	0.0198994	0.00782085
V9	-0.26547427	0.07306843
V10	-0.56865805	0.15319517
V11 (PQ)	-0.72578393	0.19415981
V12 (DHL)	-0.03508182	-1.04207497

Tabla 3. Coeficientes de control para NADH y piruvato en el modelo matemático.

Fuente: Repositorio JWS Online (<http://jij.biochem.sun.ac.za/>), Lambeth & Kushmerick, 2002 (39)

De forma acoplada a otras vías de regulación, esto indicaría que puede modularse la actividad o la cinética asociada a las enzimas piruvato quinasa y deshidrogenasa láctica para reponer la producción de energía de forma alternativa para contrarrestar los efectos en la enfermedad de Tarui. En este sentido, aspectos como el redireccionamiento de la fuente de energía hacia los lípidos o el flujo de carbono a través de la vía de las pentosas fosfato (1)(9), serían aspectos que podrían estudiarse como un sistema metabólico que, en conjunto con la FFQ, podrían brindar explicaciones referentes a la sintomatología o de opciones para posibles tratamientos.

Además, en otras posibles líneas de modulación, se ha reportado que la activación y la inhibición alostérica de la enzima por más de diez metabolitos y en respuesta a la señalización hormonal resultan en la regulación del flujo glucolítico para satisfacer las necesidades de energía de las células (19). Estos reguladores

incluyen ATP, lactato, AMP, cAMP, ADP, fructosa-2,6-bisfosfato, citrato y acil-CoA (35) y se ha demostrado que estos moduladores alostéricos ejercen propiedades estimulantes o inhibitorios que interfieren con el equilibrio entre dímeros y tetrámeros de la enzima, lo cual hace parecer plausible que moléculas como el ATP, el citrato y el lactato inhiban la FFQ mediante la estabilización de su conformación dimérica, mientras que ADP, AMP, cAMP y fructosa-2,6-bisfosfato favorecerían la formación de tetrámeros (37).

Adicionalmente, a un nivel génico (microARNs que regulen la expresión del gen de la FFQ) o bien con modificaciones post traduccionales de la misma enzima u otras proteínas y hormonas, podrían ser claves en la regulación de la actividad de la enzima (1). Por ejemplo, se ha comprobado que la fosforilación de la FFQ resulta de la estimulación por hormonas tales como epinefrina, insulina o serotonina en el músculo esquelético, y todas estas hormonas tienen la capacidad de activar glucólisis (37). Así, es posible apreciar la complejidad metabólica en la que la FFQ está inmersa, dado que está involucrada en diversas vías que terminan por regular su actividad o en aquellas que ella misma regula. Toda esa variedad podría explicar la poca claridad entre el genotipo-fenotipo en la enfermedad de Tarui.

CONCLUSIONES

Se ha presentado una descripción de la enfermedad de Tarui, un padecimiento del almacenamiento del glucógeno que afecta el músculo esquelético y ha sido reportada en al menos 100 individuos. Es ocasionada por la deficiencia de la actividad fosfofructoquinasa y se hereda con un patrón autosómico recesivo. Dado que esta enzima participa en la glicólisis y la regula, su afectación compromete la producción de energía a partir del consumo de la glucosa, con síntomas variables, pero normalmente incluye afectación muscular con intolerancia al ejercicio, mialgias, debilidad y fatiga, así como cuadros de hemólisis. Dado que varias de las glucogenosis podrían presentar síntomas similares, el diagnóstico de la enfermedad se basa en el análisis de pruebas de laboratorio como la biopsia de músculo, pruebas inmunohistoquímicas, medición de la actividad de la enzima y prueba de glucosa exógena previo a ejercicio. Además, se han detectado diferentes mutaciones de la enzima, pero las variaciones en la presentación clínica no permiten establecer una relación genotipo-fenotipo clara, por lo que se ha atribuido dicha variación a los diversos mecanismos regulatorios en los que la fosfofructoquinasa participa. Esto brinda posibles opciones de trabajo futuro referente al entendimiento de la biología de la enfermedad, en las que herramientas matemático-computacionales de la bioinformática brindarían alternativas de análisis tanto de la estructura de la enzima como de las redes metabólicas de forma entrecruzada. Esto permitiría mejorar las opciones diagnósticas, pronósticas y, especialmente, de tratamiento, el cual no existe hasta el momento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kilimann MW, Oldfors A. Glycogen pathways in disease: new developments in a classical field of medical genetics. *J Inher Metab Dis*. 2015;38(3):483-487. doi:10.1007/s10545-014-9785-5.
- Berardo A, DiMauro S, Hirano M. A diagnostic algorithm for metabolic myopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2010;10(2):118-126. doi:10.1007/s11910-010-0096-4.
- Gazzerro E, Andreu AL, Bruno C. Neuromuscular disorders of glycogen metabolism. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2013;13(3):333. doi:10.1007/s11910-012-0333-0.
- Volpi L, Ricci G, Orsucci D, et al. Metabolic myopathies: functional evaluation by different exercise testing approaches. *Musculoskelet Surg*. 2011;95(2):59-67. doi:10.1007/s12306-011-0096-9.
- Chalès G, Coiffier G, Guggenbuhl P. Manifestations ostéoarticulaires des mucopolysaccharidoses et des glycogénoses. *Rev du Rhum Monogr*. 2011;78(4):254-261. doi:10.1016/j.monrhu.2011.03.008.
- Özen H. Glycogen storage diseases: New perspectives. 2007;13(18):2541-2553.
- Hicks J, Wartchow E, Mierau G. Glycogen storage diseases: a brief review and update on clinical features, genetic abnormalities, pathologic features, and treatment. *Ultrastruct Pathol*. 2011;35(5):183-196. doi:10.3109/01913123.2011.601404.
- Fujii H, Miwa S. Other erythrocyte enzyme deficiencies associated with non-haematological symptoms: phosphoglycerate kinase and phosphofructokinase deficiency. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2000;13(1):141-148. doi:10.1053/beha.1999.0062.
- Musumeci O, Bruno C, Mongini T, et al. Clinical features and new molecular findings in muscle phosphofructokinase deficiency (GSD type VII). *Neuromuscul Disord*. 2012;22(4):325-330. doi:10.1016/j.nmd.2011.10.022.
- Tarui S, Giichi O, Ikura Y, Tanaka T, Suda M, Nishikawa M. Phosphofructokinase deficiency in skeletal muscle. A new type of glycogenosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1965;19(4):517-523. doi:10.1016/0006-291X(65)90156-7.
- Ronquist G, Waldenstro A. Imbalance of plasma membrane ion leak and pump relationship as a new aetiological basis of certain disease states. 2003:517-526.
- Dimauro S, Garone C. Metabolic disorders of fetal life: glycogenoses and mitochondrial defects of the mitochondrial respiratory chain. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2011;16(4):181-189. doi:10.1016/j.siny.2011.04.010.
- Malfatti E, Birouk N, Romero NB, et al. Juvenile-onset permanent weakness in muscle phosphofructokinase deficiency. *J Neurol Sci*. 2012;316(1-2):173-177. doi:10.1016/j.jns.2012.01.027.
- Auranen M, Palmio J, Ylikallio E, et al. PFKM gene defect and glycogen storage disease GSDVII with misleading enzyme histochemistry. *Neurol Genet*. 2015;1(1):e7-e7. doi:10.1212/NXG.0000000000000007.
- Mcardle B. Muscle glycogenoses: an overview. 2007;(i):35-41.
- Kinase P, Mutase P. Tarui disease and distal glycogenoses: clinical and genetic update. 2007;(4):105-107.
- Ono A, Kuwajima M, Kono N, et al. Glucose infusion paradoxically accelerates degradation of adenine nucleotide in working muscle of patients with glycogen storage disease type VII. 1995;(January).
- Massa R, Sancesario G, Bernardi G. Muscle phosphofructokinase deficiency. *Neurology*. 1997;49(3):899. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9305371>. Accedido enero 28, 2016.
- Webb B a., Forouhar F, Szu F-E, Seetharaman J, Tong L, Barber DL. Structures of human phosphofructokinase-1 and atomic basis of cancer-associated mutations. *Nature*. 2015;523(7558):111-114. doi:10.1038/nature14405.
- Ronquist G, Waldenstro A. Increased erythrocyte content of Ca²⁺ in patients with Tarui's disease. 2001:97-102.
- Finsterer J, Stöllberger C, Kopsa W. Neurologic and cardiac progression of glycogenosis type VII over an eight-year

- period. *South Med J*. 2002;95(12):1436-1440. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12597313>. Accedido enero 28, 2016.
22. Nakajima H, Raben N, Hamaguchi T, Yamasaki T. Phosphofructokinase Deficiency Past, Present and Future. *Curr Mol Med*. 2002;2(2):197-212. doi:10.2174/1566524024605734.
 23. Finsterer J, Stöllberger C. Progressive mitral valve thickening and progressive muscle cramps as manifestations of glycogenosis VII (Tarui's Disease). *Cardiology*. 2008;110(4):238-240. doi:10.1159/000112406.
 24. Nichols RC, Rudolphi O, Ek B, Exelbert R, Plotz PH, Raben N. Glycogenosis Type VII (Tarui Disease) in a Swedish Family : Two Novel Mutations in Muscle Phosphofructokinase Gene (PFK-M) Resulting in Intron Retentions. 1996:59-65.
 25. Hays AP, Hallett M, Delfs J, et al. Muscle phosphofructokinase deficiency: Abnormal polysaccharide in a case of late-onset myopathy. *Neurology*. 1981;31(9):1077-1077. doi:10.1212/WNL.31.9.1077.
 26. Haller R, Vissing J. No spontaneous second wind in muscle phosphofructokinase deficiency. *Neurology*. 2004;62(1):82-86. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14718702>. Accedido enero 21, 2016.
 27. Di Mauro S. Muscle glycogenoses: an overview. *Acta Myol*. 2007;26(1):35-41. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2949320&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accedido enero 28, 2016.
 28. Haller R, Lewis S. Glucose-induced exertional fatigue in muscle phosphofructokinase deficiency. *N Engl J Med*. 1991;324(6):364-369. doi:10.1056/NEJM199102073240603.
 29. Sun B, Brooks E, Koeberl D. Preclinical Development of New Therapy for Glycogen Storage Diseases. *Curr Gene Ther*. 2015;15(4):338-347. doi:10.2174/1566523215666150630132253.
 30. Tsujino S, Servidei S, Tonin P, Shanske S, Azan G, DiMauro S. Identification of three novel mutations in non-Ashkenazi Italian patients with muscle phosphofructokinase deficiency. *Am J Hum Genet*. 1994;54(5):812-819. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1918246&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accedido enero 21, 2016.
 31. Davidson M, Miranda AF, Bender AN, DiMauro S, Vora S. Muscle phosphofructokinase deficiency. Biochemical and immunological studies of phosphofructokinase isozymes in muscle culture. *J Clin Invest*. 1983;72(2):545-550. doi:10.1172/JCI111002.
 32. Nakajima H, Kono N, Yamasaki T, et al. Genetic defect in muscle phosphofructokinase deficiency. Abnormal splicing of the muscle phosphofructokinase gene due to a point mutation at the 5'-splice site. *J Biol Chem*. 1990;265(16):9392-9395. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2140573>. Accedido enero 28, 2016.
 33. Vives-Corróns J-L, Koralkova P, Grau JM, Mañú Pereira MDM, Van Wijk R. First description of phosphofructokinase deficiency in Spain: identification of a novel homozygous missense mutation in the PFKM gene. *Front Physiol*. 2013;4(December):393. doi:10.3389/fphys.2013.00393.
 34. Sherman JB, Raben N, Nicastrì C, et al. Common mutations in the phosphofructokinase-M gene in Ashkenazi Jewish patients with glycogenesis VII--and their population frequency. *Am J Hum Genet*. 1994;55(2):305-313. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1918380&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accedido enero 21, 2016.
 35. Brüser A, Kirchberger J, Schöneberg T. Altered allosteric regulation of muscle 6-phosphofructokinase causes Tarui disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;427(1):133-137. doi:10.1016/j.bbrc.2012.09.024.
 36. Raben N, Sherman JB. Mutations in muscle phosphofructokinase gene. *Hum Mutat*. 1995;6(1):1-6. doi:10.1002/humu.1380060102.
 37. Sola-Penna M, Da Silva D, Coelho WS, Marinho-Carvalho MM, Zancan P. Regulation of mammalian muscle type 6-phosphofructo-1-kinase and its implication for the control of the metabolism. *IUBMB Life*. 2010;62(11):791-796. doi:10.1002/iub.393.
 38. Kloos M, Bruser A, Kirchberger J, Schoneberg T, Strater N. Crystallization and preliminary crystallographic analysis of human muscle phosphofructokinase, the main regulator of glycolysis. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*. 2014;70:578-582. doi:24817713.
 39. Lambeth MJ, Kushmerick MJ. A Computational Model for Glycogenolysis in Skeletal Muscle. *Ann Biomed Eng*. 2002;30(6):808-827. doi:10.1114/1.1492813.

Gastroduodenal involvement as an unusual presentation of Crohn's disease

Afectación gastroduodenal como presentación inusual de la enfermedad de Crohn

Carlos San Miguel Méndez¹, María Jesús Álvarez Martín¹, Mónica Mogollón González¹, Inmaculada Segura Jiménez¹, Raquel Conde Muíño¹, Ángela Salmerón Ruíz², Pablo Palma Carazo¹

¹Department of General and Digestive Surgery. Virgen de las Nieves University Hospital. Granada. Spain.

²Department of Radiology. Virgen de las Nieves University Hospital. Granada. Spain.

Abstract

It is relatively uncommon for Crohn's disease to implicate the gastric and duodenal regions and occasionally it can cause pyloric stenosis, in which medical therapy may be ineffective and surgery might be required. We report two exceptional cases with prepyloric stenosis secondary to Crohn's disease, aiming to emphasize the clinical suspicion and to describe the diagnostic imaging procedure and surgical treatments.

Resumen

Es relativamente infrecuente que la enfermedad de Crohn afecte al estómago y duodeno y ocasionalmente puede producir estenosis pilórica, en estas situaciones el tratamiento médico suele ser ineficaz y se requiere tratamiento quirúrgico. Se exponen dos casos clínicos excepcionales de estenosis prepilórica asociada a la enfermedad de Crohn, dirigidos a enfatizar en la sospecha clínica y describir el diagnóstico y el tratamiento quirúrgico

Keywords: Crohn's disease, gastroduodenal disease, gastric stenosis, enterography.

Palabras clave: la enfermedad de Crohn, enfermedad gastroduodenal, estenosis gástrica, enterografía.

PATIENTS AND METHODS:

Case Report 1: A 29-year-old woman, diagnosed with controlled ileocolonic Crohn's disease (CD) 7 years ago was admitted with abdominal pain accompanied by anorexia and weight loss (17Kg in a year).

An upper endoscopy (UE) revealed a gastric retention and pyloric stenosis, with an inflammatory appearance. The endoscope could not pass through. A biopsy was taken. Negative *H. pylori* test.

Because of the persistence of the symptoms, an endoscopic dilatation was performed up to 12mm due to pyloric stenosis. Furthermore, a MRI enterography was also realized. It revealed important signs of gastric distension and significant reduction of the pyloric region's lumen and first duodenal portion (Figure 1).

Clinical deterioration progressed, leading to surgery. Findings showed gastric dilatation with hypertrophy of its wall, pre-pyloric stenosis and an apparently normal pylorus. A longitudinal incision was performed in the pylorus revealing a circumferential stenosis of the antrum 7-8 mm in diameter and a gastric wall hypertrophy with a characteristically "cobblestone" appearance. The mucosal defect was repaired and closed transversely using the Heineke-Mikulicz technique.

Case Report 2: A 52-year-old-woman diagnosed with ileocolonic CD 8 years earlier, and with a surgical history of several procedures at the ileum site, was admitted with postprandial vomiting, accompanied by a very significant and painful abdominal distension with no further intestinal transit alterations.

Transit studies with barium were conducted, showing an elongated shaped stomach. Moreover, slow emptying with important alterations in bowels' folds was assessed. The UE reported inflammatory stenosis in duodenum, unable to be traversed by the endoscope. Biopsies were taken, with results of intense nonspecific duodenitis. HP test (-). Adalimumab therapy was begun but within two months the patient started to show progressive clinical deterioration with postprandial vomiting and oral intolerance.

Due to pyloric stenosis, MRI enterography was not indicated and alternatively PET-CT scan was performed to rule out further CD affection. Metabolic activity was assessed at the colic framework (Figure 2).

Within a week, surgery treatment was scheduled performing a gastrojejunostomy, to bypass the gastroduodenal stricture.

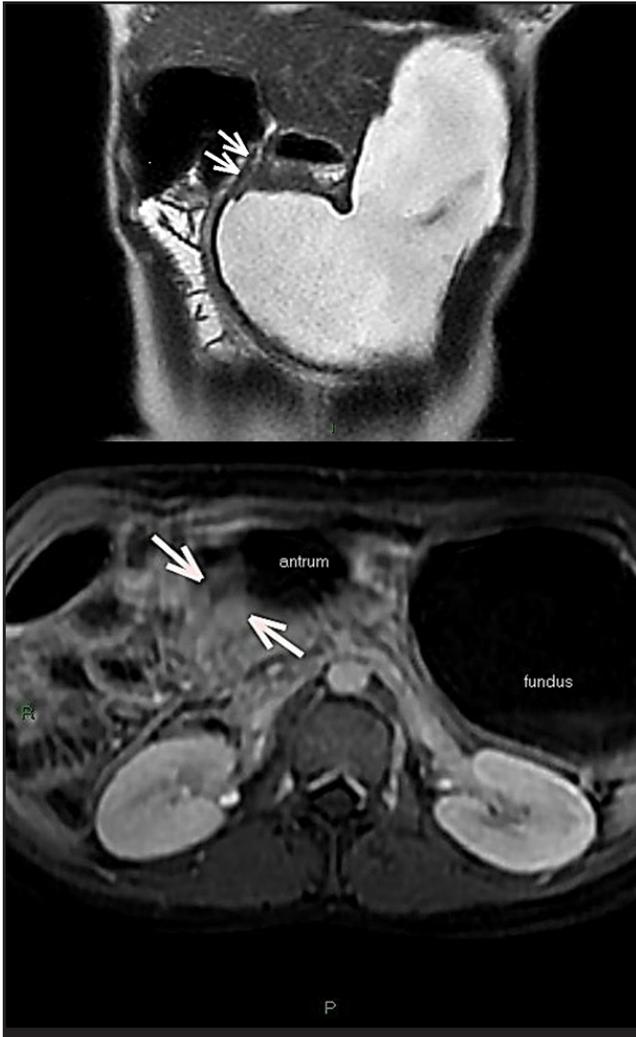


Fig 1. A. MRI Enterography. Important gastric distension and reduction of the lumen of the pyloric region and first duodenal portion. B. Axial MRI Enterography: Pyloric stenosis with unstratified homogeneous uptake.

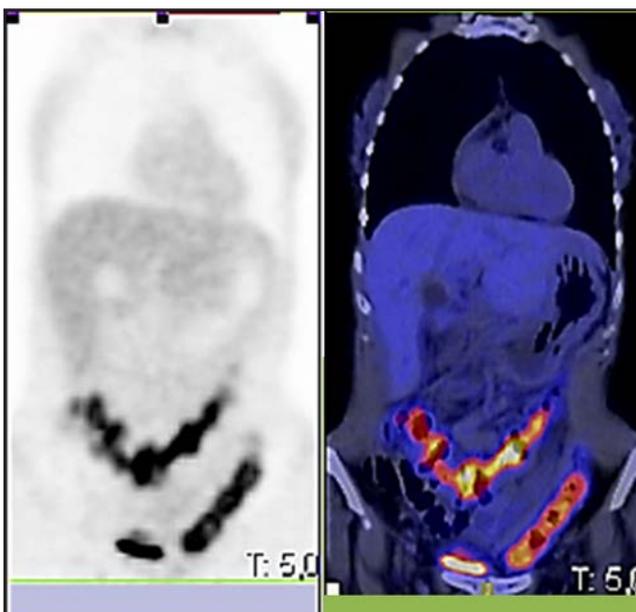


Fig 2. 18FDG-PET/CT: Increase of metabolism at the colic framework.

RESULTS:

The immediate post-operative course in the first case was uneventful and several months following discharge the patient continues with proper oral tolerance. Imaging studies upon ultrasound revealed no further passage impairment neither gastroduodenal nor ileal.

The Pathology report was described as fragments of moderate chronic non-specific inflammation, mild epithelial dysplasia and ulceration foci.

The post-operative period was also uneventful in our second case, and on the third day the patient started to drink liquids. She was discharged one week later with no surgical complications. During her follow-up consultations, there have been no symptoms or findings suggestive of relapse. Indeed, she has proper oral tolerance, having gained 6 kg weight.

Her mild affection at the colon frame is still objective upon colonoscopy but without any clinical manifestation.

DISCUSSION:

CD can involve any part of the gastrointestinal tract; however, there are few reports on the pathology and treatment of gastric lesions in this disease, which led the interest of our case report.

Gastroduodenal involvement of CD is present in 30% of cases but being symptomatic in only 0.5% to 4% of them (1), and almost all have simultaneous affection of the terminal ileum or large intestine, as in our cases (2, 3, 4, 5).

The most common symptom, epigastric postprandial pain, is usually relieved by food intake or antacids. Continuous abdominal pain, associated with nausea and vomiting, weight loss, and anorexia, suggests difficulties in gastric emptying probably due to gastroduodenal stenosis (3). However, these symptoms may also be attributable to ulcer disease or treatment side effects, making the clinical suspicion and the ruling out very important. In this context, it should be underlined that the prevalence of *H. pylori* infection in these patients is similar to the general population (2,3).

Histological findings may often be non-specific in CD (1, 5), as in our two patients. Nevertheless, despite a clear history of inflammatory bowel disease, an UE biopsy is always recommended.

Traditional imaging in CD has included ultrasound and CT. At present, magnetic resonance enterography provides excellent soft tissue contrast resolution, potential for dynamic assessment of the bowel, and lack of ionizing radiation (5), thus offering considerable information about disease extent, activity, and complications. The sensitivity of MRI to diagnose fistulae (94.9%), abscesses (93.8%), and strictures (96.2%) supports its use as a superior imaging modality for complication assessment in CD.

Unfortunately, pyloric stenosis does not allow an adequate bowel preparation, and thus could not be of interest in gastroduodenal stenosis of CD. In patients with CD, mucosal disease activity is routinely assessed by endoscopy and histologic evaluation, but in recent studies it has been evaluated the translational potential of noninvasive 18F-FDG PET/CT for the assessment of mucosal damage in CD, as we have done in our second case report (6). The usefulness of this method becomes relevant as an alternative to MRI enterography in the group of patients in which it is not possible to perform an adequate bowel preparation, as in our second case.

Approximately one third of all patients does not respond to medical treatment and requires surgery. Obstruction and gastric emptying difficulty are the most common indications (5).

Gastric bypass mediated by gastrojejunostomy is the treatment of choice, although other options can be performed, including endoscopic dilatation, gastric resections, or stricturoplasty, as in our first case report (1, 4, 5).

Although surgical results are satisfactory, early detection of these lesions and appropriate follow-up are cornerstones in preventing development of pyloric stenosis.

This report should alert gastroenterologists and surgeons about gastroduodenal involvement as an unusual presentation of CD.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Loftus EV Jr. Upper gastrointestinal tract Crohn's disease. *Clin Perspect Gastroenterol* 2002;5:188–191.
2. Costas H, Kefalas. Gastroduodenal Crohn's disease. *BUMC Proceedings* 2003;16:147-151.
3. Isaacs KL. Upper gastrointestinal tract endoscopy in inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc Clin North Am* 2002;12:451–462.
4. Schill, G. Assessment of disease behavior in patients with Crohn's disease by MR enterography. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:983-90.
5. Allen BC, Leyendecker JR. MR Enterography for assessment and management of small bowel Crohn disease. *Radiol Clin N Am* 2014;52:799–810.
6. Lenze F, Wessling J, Bremer J, Ullerich H, Spieker T, Weckesser M, et al. Detection and differentiation of inflammatory versus fibromatous Crohn's disease strictures: prospective comparison of 18F-FDG-PET/CT, MR-Enteroclysis, and transabdominal ultrasound versus endoscopic/histologic evaluation. *Inflamm Bowel Dis* 2002;18:2252-2260.

Síndrome de Lemierre, una complicación grave de la sinusitis aguda

Lemierre's syndrome, a serious complication of acute sinusitis

Ana Margarita Cantero Macedo, María Concepción Carrasco Seco, María Forte Guerrero, -
Antonio Víctor Bazo Fariñas, Jorge Callejo Calvo
C.S. Valdepasillas, Badajoz, España

Resumen

Presentamos el caso clínico de una sinusitis aguda en un paciente joven con mala evolución y fatal desenlace, presentando como complicación un Síndrome de Lemierre. El Síndrome de Lemierre, caracterizado por una tromboflebitis de la vena yugular interna asociado a bacteriemia tiene una prevalencia baja (3,6 casos/millón/año), si bien, el aumento de las resistencias a antibióticos está influyendo negativamente en la prevalencia de la enfermedad. Su diagnóstico se basa en pruebas de imagen que muestren la afectación venosa, así como el crecimiento de bacterias en sangre mediante cultivo. Su manejo es hospitalario, usando antibioticoterapia intravenosa prolongada a altas dosis, asociado a anticoagulación y cirugía dependiendo del caso.

Abstract

We report a case of acute sinusitis in a young patient with poor evolution and fatal outcome, presenting as a complication Lemierre syndrome. Lemierre syndrome, characterized by thrombophlebitis of the internal jugular vein associated with bacteremia has a low prevalence (3.6 cases / million / year), although the increase in antibiotic resistance is negatively influencing the prevalence of disease. Diagnosis is based on imaging tests showing the venous involvement, as well as the growth of bacteria in the blood by culture. Its handling is hospitable, prolonged intravenous antibiotic therapy using high doses associated with anticoagulation and surgery depending on the case.

Palabras clave: Síndrome de Lemierre; complicaciones de sinusitis; sinusitis aguda.

Keywords: Lemierre, s Syndrome, sinusitis complications, acute sinusitis.

INTRODUCCIÓN:

El síndrome de Lemierre es una complicación grave y poco frecuente de procesos infecciosos orofaríngeos, que se caracteriza por la presencia de embolia séptica junto con trombosis de la vena yugular interna.⁽²⁾

Descrito por primera vez en 1900 por Courmony and Cade y definido por el Dr. Lemierre en 1936 como "septicemia post-angina".⁽³⁾ Se presenta un caso de síndrome de Lemierre con desenlace fatal.

CASO CLÍNICO:

Se expone el caso de un paciente de 18 años de edad con intolerancia digestiva a amoxicilina-clavulánico, arrancamiento de ligamento cruzado anterior (2012) y apendicectomía (infancia).

Consulta por primera vez en el servicio de urgencias por dolor en senos maxilares con rinorrea verdosa, fotofobia y sensación distérmica no termometrada, de una semana de evolución, que le impide el descanso y no mejora con paracetamol. También presenta náuseas sin vómitos.

En la exploración física: temperatura de 36.9° C, saturación O₂ de 98% y leve dolor a la palpación de senos maxilares, por lo que en primera instancia se inicia tratamiento con Azitromicina 500mg/24h/3 días (intolerancia amoxicilina/clavulánico), además de Naproxeno 550mg cada 12 horas.

Pasados 5 días, nueva consulta por rinorrea verdosa y maloliente de procedencia nasal, vómitos alimentarios e incipiente diarrea, sin productos patológicos, siendo diagnosticado de gastroenteritis aguda y tratado para tal fin con alta a domicilio.

Al día siguiente, acude de nuevo a urgencias, con mal estado general, vómitos sanguinolentos y tendencia al sueño, objetivándose en la exploración física edema palpebral izquierdo, rigidez cervical izquierda con tumefacción desde región parotídea hasta tercio superior de región cervical. En orofaringe se intuye abombamiento del paladar blando con secreción de aspecto blanquecino.

Se realiza analítica. En el hemograma: hemoglobina 15.7 g/dl, hematocrito 48%, Leucocitos 5.2 mil/mm³ (con series leucocitarias normales) y 50.000 plaquetas. En la coagulación: alterados el INR 1.53 y el fibrinógeno 998 mg/dl. Bioquímica normal.

Se completa estudio con radiografía de tórax y abdomen sin hallazgos reseñables.

Ante la sospecha de sinusitis complicada se opta por realizar TAC craneal que pone de manifiesto engrosamiento del pilar amigdalino izquierdo sin apreciarse colección líquida abscesificada retro o parafaríngea. En el seno maxilar izquierdo, esfenoidal y celdas etmoidales izquierdas: niveles líquidos de secreciones que se realizaban con contraste en su interior. En el seno maxilar derecho y celdas etmoidales derechas: secreciones pero sin realce mucoso, en seno frontal derecho se visualiza estructura con contenido mucoso que tenía aspecto de concha bullosa sobreinfectada. Además trombosis de la vena yugular interna desde el agujero rasgado y de la vena yugular externa. En la órbita: ingurgitación de la vena oftálmica superior y aumento de la densidad de la grasa retroorbitaria secundaria al componente inflamatorio. También afectación de glándulas submandibular y parótida izquierdas (aumento de tamaño e hipodensidad) y del paquete muscular masticador.

Este conjunto de hallazgos descritos se corresponde con una faringoamigdalitis y sinusitis aguda complicada debido a la presencia trombosis de las venas yugulares y extensión del componente inflamatorio a la grasa retroorbitaria, compatible con un Síndrome de Lemierre (Figuras 1 y 2).(1)

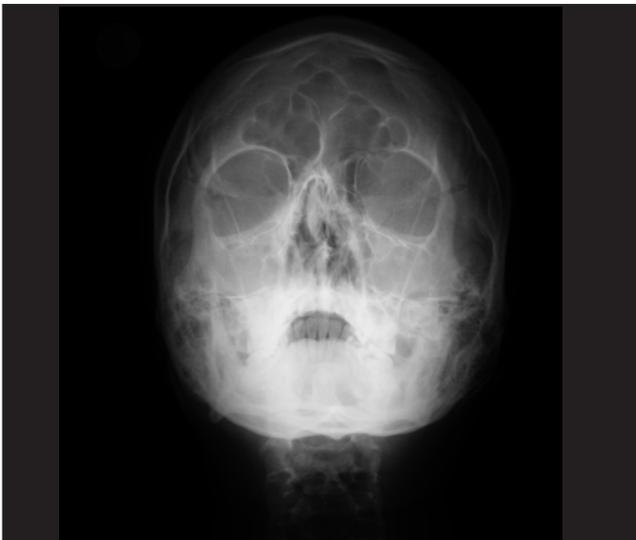


Figura 1. Mala neumatización de los senos en la proyección de Waters.



Figura 2. Proyección axial de TAC tras drenaje ventricular.

A las tres horas, a pesar del inicio de antibioticoterapia de amplio espectro, y anticoagulantes a dosis terapéuticas, se produce empeoramiento clínico, con deterioro del nivel de conciencia (Glasgow: 3 puntos), midriasis arreactiva bilateral, y necesidad de intubación orotraqueal, también alteraciones analíticas: hemoglobina 13.3 g/dl, hematocrito 41.2%, leucocitos 7.8 mil/mm³ (con predominio de neutrófilos 92%) y plaquetas 40.000. En la bioquímica aumento de LDH hasta 710 UI/l.

Ante esta situación, se comenta el caso con U.C.I. y ORL de guardia que indica cirugía endoscópica nasal, que confirma la ocupación del seno maxilar, etmoidal y frontal izquierdos por material purulento y el cornete medio izquierdo bulloso, con presencia de coágulos en su interior.

Tras la intervención y ante la persistencia del bajo nivel de conciencia se repite TAC craneal para descartar edema cerebral con resultados de: hemorragia subaracnoidea en cisura de Silvio derecha, con sangre intraventricular y colección líquida y hematoma subcutáneo en el lado izquierdo además de la ocupación de los senos maxilares, etmoidales y frontales.

Tras esto, se avisa a neurocirugía, que realiza drenaje ventricular externo del lado derecho. Como hallazgo intraoperatorio destaca la presencia de líquido cefalorraquídeo turbio. El paciente fallece horas después en UCI.

Revisando los hemocultivos posteriormente, se aisló *Peptostreptococcus Spp*, sensible a penicilina y resistente a clindamicina y metronidazol.

DISCUSIÓN:

El síndrome de Lemierre afecta principalmente a adultos jóvenes siendo su incidencia es de 3.6 casos/millón de habitantes/año.(4)

Debemos sospechar un síndrome de Lemierre ante un paciente que presente un proceso infeccioso orofaríngeo, con fiebre, mal estado general y tumefacción dolorosa de la cara lateral del cuello.(5) Puede haber además trismus, síndrome de Horner y parálisis de pares craneales bajos (III, V, VI). Una de las complicaciones más frecuentes suelen ser los embolismos sépticos a distancia, donde el pulmón suele ser el órgano más afectado.

El diagnóstico es clínico acompañado de pruebas radiológicas. La TAC con contraste es la prueba complementaria de elección.(6) La ecografía doppler también puede detectar trombosis de la vena yugular interna.

Es posible que la trombosis ocurra en diferentes venas de cráneo o cuello, por lo que la ausencia de trombosis en la vena yugular interna, no excluiría su diagnóstico. La radiografía simple ayuda si sospechamos afectación del parénquima pulmonar provocadas por embolias sépticas.

En el hemocultivo, el aislamiento del microorganismo gram-negativo *Fusobacterium necrophorum*, se considera un criterio diagnóstico. Sin embargo, hasta en un 30% de ocasiones se pueden aislar otros, como *F. nucleatum*, *F. prausnitzii*, *Bacteroides sp*, *Streptococcus sp* o *Eikenella corrodens*. También es posible que no se aislen otros microorganismos debido al uso previo de antibióticos.(7)

Si existe sospecha fundada del síndrome, se recomienda el inicio del antibiótico de forma precoz sin esperar confirmación, pues el retraso en el tratamiento conlleva un peor pronóstico. Además debe ser un tratamiento prolongado (al menos 6 semanas) y a dosis elevadas.(8)

El metronidazol ha sido el tratamiento de elección en el manejo de infecciones por este germen, pero se recomienda acompañarlo de un inhibidor de la beta-lactamasa, carbapenem o moxifloxacino + metronidazol/clindamicina con el objetivo de cubrir gérmenes anaerobios y gram-negativos. Los estudios antimicrobianos

desaconsejan el empleo de monoterapia y recomiendan, si fuera posible, instaurar el tratamiento según antibiograma.(9)

En cuanto al uso de anticoagulantes, algunos autores recomiendan su uso siempre; otros prefieren su uso si existe evidencia de progresión hacia seno cavernoso o ante falta de respuesta a antibióticos. (10)

El tratamiento quirúrgico consiste en el drenaje de abscesos y la ligadura o resección de la vena yugular interna si hay sospecha de que persisten los émbolos a pesar de un adecuado tratamiento médico.

Podemos concluir, que la actuación inicial en urgencias fue correcta, al utilizar, ante las sospecha de sinusitis aguda, un antibiótico alternativo a amoxicilina-clavulánico, en este caso azitromicina. No disponemos en hemocultivos la sensibilidad-resistencia del *Peptostreptococcus Spp a azitromicina*, por lo que no podemos concluir si el tratamiento pautado no fue efectivo por resistencia bacteriana, o bien, resultó insuficiente ante una sinusitis que quizá ya estaba complicándose.

En la segunda consulta de urgencias, a los 5 días, el paciente continuaba con igual clínica, si bien, la consulta parece que se centró más en la nueva sintomatología, haciéndose diagnóstico de gastroenteritis aguda.

La tercera consulta y posterior actuación a nivel hospitalario se ajusta a las guías clínicas, se usa la TAC como prueba diagnóstica, y atendiendo a la gravedad del proceso se realizó tratamiento quirúrgico urgente.

Financiación: No hemos tenido fuente de financiación alguna.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Eilbert and Singla: Lemierre's síndrome. International Journal of Emergency Medicine 2013, 6:40
2. Tellería A, Jiménez I, Susperregui I, Ramos J, Gutiérrez A. Síndrome de Lemierre.
3. Med Intensiva. 2005; 29: 441-4.
4. Lemierre A. On certain septicemias due to anaerobic organisms. Lancet 1936; 1: 701-703.
5. Ridgway JM et al. Lemierre syndrome: a pediatric case series and review of literature. American Journal of Otolaryngology – Head and Neck medicine and Surgery. 2010;31: 31-45
6. Montiel R, Quintero S, Hernández A, De Benito MT, García I, Tinoco I, Pantoja S. Síndrome de Lemierre. La enfermedad olvidada. Med Intensiva 2005; 29: 437-40
7. Lacaze O, Bocquel V, Fournel P, Emonot A. Lemierre syndrome: clinical and radiological characteristics of a rare disease. Rev Mal Respir. 2000;17:1105-6.
8. Nejat M, Werno A. Importance of blood cultures to aid the diagnosis of Lemierre's syndrome. N Z Med J. 2015;128:62-4.
9. Ungprasert P, Srivali N. Diagnosis and treatment of Lemierre syndrome. Am J Emerg Med. 2015 ;33:1319
10. Lagua M, Lahoz T, Martínez J, Valero J, Fraile J, Cámara J. Síndrome de Lemierre. Tromboflebitis séptica de la yugular interna secundaria a amigdalitis aguda. Acta Otorrinolaringol Esp. 2001; 52: 163-166.
11. Zouagui A, Abourazzak S, Smaili L, Elarqam L, Chaouki S, Atmani S, Bouharrou A, Hida M. Lemierre syndrome: must anticoagulation remain controversial? Pediatr Crit Care Med. 2009 ;10:276-7

Bilateral jaw fracture after long term treatment with bisphosphonates. A case report.

Fractura bilateral de mandibular tras un tratamiento a largo plazo con bifosfonatos

Paolo Cariati¹, Dario Sanchez Lopez², Miguel Perez de Perceval¹, Alfredo Valencia², Blas Gracia Medina²

¹Residente de Cirugía Oral y Maxilofacial. Complejo Hospitalario Granada.

²FEA Cirugía Oral y Maxilofacial. Complejo Hospitalario Granada.

Abstract

Bisphosphonates represent type of medication used for treating numerous pathologies. In fact, more and more clinicians utilize bisphosphonates for dealing oncological diseases, rheumatic pathologies and severe osteoporosis. Despite its benefits, various undesirable side effects have also been associated with the use of these drugs. For instance, patients who receive bisphosphonates present a greater risk of suffering osteonecrosis of jaw. Indeed, the possibility of experiencing this complication is around 0,812% when bisphosphonates are administered intravenously. In contrast, the risk is about 0,01% with oral administration. However, when a tooth extraction is carried out the risk rises to 0,34%. This report presents the case of a 66 years old woman who suffered a bilateral jaw fracture after prolonged treatment with bisphosphonates. Interestingly, no invasive dental procedures were referred by patient. The main aim of this paper is to focus the attention on the serious complications that this treatment may show in the long term.

Resumen

Los bifosfonatos son fármacos ampliamente utilizados en el tratamiento de numerosas enfermedades. Diferentes profesionales utilizan los bifosfonatos para tratar complicaciones de patologías oncológicas, osteoporosis y patologías reumatológicas. Sin embargo, a pesar de los efectos benéficos, existen efectos secundarios consecuente al uso de este tipo de medicamento. Por ejemplo, la osteonecrosis maxilar es más frecuente en pacientes tratados con bifosfonatos. En este sentido, la posibilidad de desarrollar osteonecrosis maxilar es del 0,812% cuando la medicación es administrada por vía intravenosa y del 0,01% en caso de administración oral. Además, cuando se realiza una extracción dental el riesgo incrementa de un 0,34%. Este artículo presenta el caso de una paciente de 66 años que sufrió una fractura bilateral y espontánea de la mandíbula tras el uso de bifosfonatos durante un largo periodo de tiempo. Es importante enfatizar que, en este caso, el paciente no había sido sometido a intervenciones de cirugía oral en los meses previos. El principal objetivo de este estudio es focalizar la atención sobre las posibles complicaciones provocadas por este medicamento.

INTRODUCTION:

Several studies demonstrated that Bisphosphonates are an important and well-established drug in the treatment of several diseases (1). Its represent the first-line treatment for malignant hypercalcemia and bone metastasis (2). Moreover, bisphosphonates are also used for treatment of paget's disease, osteoporosis, and multiple myeloma (3). When administered, bisphosphonates are deposited into the bones, due to high affinity for hydroxyapatite, and are accumulated through time (4). It is common knowledge that patients who receive these medicines have an increased risk of suffering ONJ (5) (6). This risk is around 0,812% if bisphosphonates are administered intravenously. Whereas, is less for oral admi-

nistration (0,01%). Notwithstanding, the risk rises to 0,34% when invasive dental procedures are performed in patients treated with this drugs (4). In this sense, professionals who prescribe bisphosphonates must strongly advise about this complication and dental extractions should be avoided in these case (7) (8) (9).

CASE REPORTS:

We describe the case of a 66-year-old woman who came to the emergency service of our Hospital with mouth pain, active oral suppuration, fever and bad general condition. Once in the hospital,

Keywords: Bilateral jaw fracture, bisphosphonates, jaw bone, ONJ

Palabras clave: Fractura de mandíbula bilateral, bifosfonatos, hueso mandibular, osteonecrosis maxilar

intravenous antibiotic treatment was administered and a maxillofacial surgeon was contacted. A careful anamnesis revealed that patient received long term therapy with bisphosphonates. In fact, she was diagnosed with breast cancer eight years ago. Intraoral examination showed bone exposure with active suppuration of purulent matter in the third and fourth quadrants of the jaw. The rest of the physical examination was normal. Bearing in mind the patient's history, we decided to perform an orthopantomography. This test showed a major area of bone degeneration and a bilateral non-displaced fracture of the mandible. Considering all this, the patient was hospitalized in order to maintain intravenous antibiotic treatment. Treatment response was positive since the earliest days. In view of that, we continue with this conservative approach during ten days. We also perform a rigid blockage of the jaw and a complete debridement of necrotic tissue. The clinic substantially improve during the hospital stay. Finally, she was discharged from hospital after two weeks with oral antibiotic for other four weeks. Importantly, jaw blockage was also maintained during 4 weeks. Patient was reviewed every 3-4 weeks for one year. It is important to underline that during the follow-up, we observed that patient remained asymptomatic.



Fig 1. Bilateral jaw fracture.



Fig 2. Jaw fracture evolution during patient follow-up (one months after diagnosis)

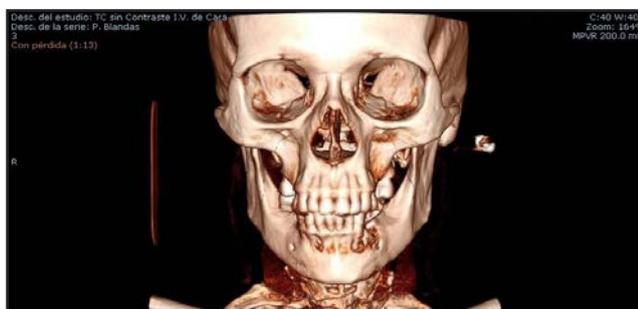


Fig 3. Jaw fracture evolution during patient follow-up (nine months after fracture reduction)

DISCUSSION:

In recent times, the use of bisphosphonates is growing rapidly. In fact, oral and intravenous preparations of this drugs are daily prescribed for treating pathologies such as osteoporosis, rheumatic

pathologies and several metabolic bone diseases. In this light, the main aim of the present report is to show the serious consequences that bisphosphonates could provoke on the jaw bone. In our opinion, these complications are often underestimated by a vast number of clinicians. This report raises three central points. First, conservative treatment is preferable where possible in cases of ONJ. In this line, unnecessary manipulation of the oral cavity should be avoided in these patient. Second, an accurate oral examination is mandatory before the beginning of bisphosphonate treatment. In fact, the existence of dental pathology need to be diagnosed and treated prior to commencement with antiresorptive medication. This attitude might reduce the frequency of ONJ (10). Third, is the consideration that bisphosphonates should be used with caution. In fact, patients who receive bisphosphonates need a close monitoring for life. In addition, there are no effective treatments for this disease.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. R.F. Barghash, W.M. Abdou. Pathophysiology of Metastatic Bone Disease and the Role of the Second Generation of Bisphosphonates: From Basic Science to Medicine. Curr Pharm Des. 2016.
2. S.L. Ruggiero, T.B. Dodson, L.A. Assael, R. Landesberg, R.E. Marx, B. Mehrotra; American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. Oral Maxillofac Surg. 2009; 67: 2-12. doi: 10.1016/j.joms.2009.01.009.
3. M.J. Rogers, S. Gordon, H.L. Benford, F.P. Coxon, S.P. Luckman, J. Monkkonen, J.C. Frith. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Cancer. 2000; 15: 2961-78.
4. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. J Oral Maxillofac Surg. 2007; 65:369-76.
5. F.L. Heggendorf, T.C. Leite, K.S. Cunha, A.S. Junior, L.S. Gonçalves, K.B. Da Costa, E.P. Dias. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: Report of a case using conservative protocol. Spec Care Dentist. 2016; 36:43-7. doi: 10.1111/scd.12143.
6. F.R. Pires, A. Miranda, E.S. Cardoso, A.S. Cardoso, E.R. Fregnani, C.M. Pereira, M.E. Correa, J.P. Almeida, F. de A. Alves, M.A. Lopes, O.P. De Almeida. Oral avascular bone necrosis associated with chemotherapy and bisphosphonate therapy. Oral Dis. 2005; 11:365-9.
7. C. Walter, M.O. Klein, A. Pabst, B. Al-Nawas, H. Duschner, T. Ziebart. Influence of bisphosphonates on endothelial cells, fibroblasts, and osteogenic cells. Clin Oral Investig. 2010; 14:35-41. doi: 10.1007/s00784-009-0266-4.
8. A.A. Polymeri, G.J. Kodovazenitis, A.D. Polymeris, M. Komboli. Bisphosphonates: Clinical Applications and Adverse Events in Dentistry. Oral Health Prev Dent. 2015; 13:289-99. doi: 10.3290/j.ohpd.a34370.
9. S. Reiss, D. Sultan. Risk Factors in the Development of Oral Bisphosphonate-induced Osteonecrosis. N Y State Dent J. 2015 Nov; 81:30-3.
10. R.H. Goodday. Preventive Strategies for Patients at Risk of Medication-related Osteonecrosis of the Jaw. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2015; 27: 527-36. doi: 10.1016/j.coms.2015.06.006.



ANDALUCÍA MÉDICA

Revista editada por el
Consejo Andaluz de Colegios de Médicos



Toda la información
sobre la actualidad colegial en Andalucía



Publicación
bimestral



Edición
impresa y online

www.andaluciamedica.es

El consentimiento informado ¿Un riesgo para la información del paciente?

Consent form. A risk to patient information?

Manuel Pérez-Sarabia

Secretario Técnico - Letrado Consejo Andaluz de Colegios de Médicos. España.

Resumen

La sistemática general que ha marcado el desarrollo de la jurisprudencia y la regulación del derecho a la información en el ámbito sanitario, merece un análisis crítico, que pueda contribuir a subsanar aspectos contraproducentes en relación con los verdaderos objetivos de la información, que son en definitiva los derechos de los pacientes y de los profesionales. En cambio, los aspectos negativos señalados, pueden ser la burocratización del ejercicio del derecho, la deshumanización del acto, el deficiente conocimiento del paciente o incluso el déficit de información imprescindible para que el médico pueda realizar la mejor praxis. Este artículo simplifica la esencia de los aspectos clave de la materia, y ofrece una pautas que pueden servir para mejorar el ejercicio práctico de estos derechos.

Abstract

The general systematics that has marked the development of case law and the regulation of the right to information in the health field, deserves critical analysis, which can help overcome counterproductive aspects concerning the true aims of information, which are ultimately the rights of patients and professionals. Instead, the negative aspects mentioned may be the bureaucratization of human rights or the right of the patient, the dehumanization of the act, poor knowledge of the patient or even the deficit of essential information to the physician to carry out the best practice. This article simplifies the essence of the key aspects of the subject, and provides guidelines which can serve to improve the practical exercise of these rights.

Palabras clave: consentimiento informado; autonomía de la voluntad; principio de beneficencia; medicina paternalista; contrato; intercomunicación; intimidad; confidencialidad; secreto médico; seguridad del paciente.

Keywords: consent form; autonomy; principle of beneficence; paternalistic medicine; contract; intercommunication; privacy; confidentiality; medical confidentiality; patient safety.

INTRODUCCIÓN:

En el XII Congreso de la Sociedad Española del Dolor y XIII Reunión Iberoamericana del Dolor, celebrada en Sevilla, los pasados días 28 a 31 de mayo de 2015, me invitaron a realizar una ponencia sobre el derecho a la información y el consentimiento informado, que a primera vista parecen conceptos jurídico-sanitarios simples y bien asumidos, pero en cambio el profundo repaso de la materia, me llevó a una serie de conclusiones que deben ser tenidas en consideración.

OBJETIVOS:

Obtener una reflexión crítica sobre el derecho a la información y el consentimiento informado en el momento actual.

METODOLOGÍA:

Análisis sistematizado del marco normativo, jurisprudencial, doctrinal y deontológico.

RESULTADOS:

1. Antecedentes del Consentimiento Informado

Año 1.900, en Cuba, la Comisión Reed, incentivaba a los soldados para someterse a la picadura de mosquitos infectados de fiebre amarilla. Se les hacía firmar un consentimiento informado con los riesgos de esta práctica.

Año 1.914, caso Schloendorff. El Juez Benjamín Cardozo (Tribunal Supremo de New York) recogió por primera vez en una Sentencia el derecho de todo ser humano a determinar que quiere hacer con su cuerpo. Primer reconocimiento jurisprudencial del *consent form*.

Año 1976, recomendaciones Asamblea Europea.

Ley 14/1986 General de Sanidad. Establece derecho a la información por primera vez en una disposición de rango normativo en España.

Año 1999, ratificación del Convenio de Oviedo de 4 de abril de 1997, para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina.

Año 2002, Ley de Autonomía del Paciente.

2. Premisa I.

Partimos de la siguiente premisa: El derecho a la información no es igual a consentimiento informado. Son conceptos intrínsecamente relacionados, pero diferentes.

El derecho a la información ha tenido una evolución desde:

1º La medicina paternalista, donde todo se hacía por el paciente, sin contar con la voluntad del paciente.

2º La implantación del sistema de información basado en autonomía de la voluntad.

3º La derivación hacia un modelo de información defensiva.

Esta derivación hacia un sistema de información defensiva, nos puede llevar a una interpretación del derecho a la información desviada hacia a la teoría general de los contratos, mediante la que se ejecuta el consentimiento informado como si fuera un simple contrato civil, con sus elementos propios; el objeto (información clínica), la causa (la intervención del acto médico), y el consentimiento; quedando el consentimiento informado como mero justificante o recibo de haber cumplimentado un trámite formal, desvirtuándose su verdadera finalidad y objetivo, hacia una simple cumplimentación burocrática.

Esta es la principal crítica del artículo, porque la mecanización burocrática podría abstraer al médico de las exigencias esenciales de información, que como más adelante veremos, también concierne a la que el paciente está obligado a facilitar. La vocación del médico está intrínsecamente vinculada a la condición humanista que le obliga. Al igual que ningún acto médico debe estar guiado por una simple satisfacción burocrática, la información al paciente tampoco debe estarlo.

Partiendo de que el médico no debe prescindir nunca del principio de beneficencia, aunque sea en juego obligado con el principio de autonomía de la voluntad ¿Hacia donde debemos de ir?

La clave es la intercomunicación, un verdadero intercambio de información, basado en el diálogo y relación de confianza médico-paciente, que es el verdadero fundamento del derecho a la información, y siempre bajo las premisas conjugadas de beneficencia más autonomía de la voluntad.

3. Premisa II

La segunda y última premisa de la que partimos, es que el derecho a la información tiene un sentido bidireccional, “*La historia clínica se construye en gran parte con la información que proporciona el paciente*” (Manual de Ética y deontología Médica. OMC 2012. Pág. 60.). Con lo cual podemos decir que el derecho a la información está conformado por dos elementos:

- La información que da el paciente al médico.
- La información que recibe el paciente del médico.

4. Regulación del derecho a la Información. Características legales de la información.

Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente. El **derecho de información sanitaria**:

“Artículo 4 Derecho a la información asistencial “

1. Los pacientes tienen derecho a conocer, con motivo de cualquier actuación en el ámbito de su salud, toda la información disponible sobre la misma, salvando los supuestos exceptuados por la Ley. Además, toda persona tiene derecho a que se respete su voluntad de no ser informada. La información, que como regla general se proporcionará verbalmente dejando constancia en la historia clínica, comprende, como

mínimo, la finalidad y la naturaleza de cada intervención, sus riesgos y sus consecuencias.

2. La información clínica forma parte de todas las actuaciones asistenciales, **será verdadera**, se comunicará al paciente de forma comprensible y adecuada a sus necesidades y le ayudará a tomar decisiones de acuerdo con su propia y libre voluntad.

3. El **médico responsable del paciente le garantiza el cumplimiento de su derecho a la información**. Los profesionales que le atiendan durante el proceso asistencial o le apliquen una técnica o un procedimiento concreto también serán responsables de informarle.

Artículo 5 Titular del derecho a la información asistencial

1. El titular del derecho a la información es el paciente. También serán informadas las personas vinculadas a él, por razones familiares o de hecho, en la medida que el paciente lo permita de manera expresa o tácita.

2. El paciente será informado, incluso en caso de incapacidad, **de modo adecuado a sus posibilidades de comprensión**, cumpliendo con el deber de informar también a su representante legal.

3. Cuando el paciente, según el criterio del médico que le asiste, carezca de capacidad para entender la información a causa de su estado físico o psíquico, la información se pondrá en conocimiento de las personas vinculadas a él por razones familiares o de hecho.

4. El derecho a la información sanitaria de los pacientes **puede limitarse por la existencia acreditada de un estado de necesidad terapéutica**. Se entenderá por necesidad terapéutica la facultad del médico para actuar profesionalmente sin informar antes al paciente, cuando por razones objetivas el conocimiento de su propia situación pueda perjudicar su salud de manera grave. Llegado este caso, el médico **dejará constancia razonada de las circunstancias en la historia clínica y comunicará su decisión a las personas vinculadas al paciente por razones familiares o de hecho**.

Por esto, podemos decir las siguientes características legales de la información:

Completa y comprensible, contemplando **las alternativas médicas**.

Como **regla general se proporcionará verbalmente dejando constancia en la historia clínica**.

Comprende, como mínimo, **la finalidad y la naturaleza de cada intervención, sus riesgos y sus consecuencias**.

Será verdadera, se comunicará al paciente de forma comprensible y adecuada a sus necesidades y le ayudará a tomar decisiones de acuerdo con su propia y libre voluntad.

El **médico responsable del paciente le garantiza el cumplimiento de su derecho a la información**.

Forma parte de la Lex Artis ad hoc.

5. Regulación del consentimiento informado.

El consentimiento informado en cambio es un documento legal, de carácter probatorio, exigido por la Ley 41/2002, de Autonomía del Paciente.

5.1. Forma del Consentimiento.

Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, establece que:

1. El consentimiento **será verbal por regla general**, siempre en los términos más comprensibles posibles, y lo mejor, solicitado cuando sea posible delante de algún testigo.

2. El consentimiento informado **será obligatoriamente por escrito**, en los 3 casos siguientes:

- **Intervención quirúrgica.**
- **Procedimientos diagnósticos y terapéuticos invasivos.**
- En general, aplicación de procedimientos que suponen **riesgos o inconvenientes de notoria y previsible repercusión negativa** sobre la salud del paciente.

5.2 Límites del consentimiento.

Los facultativos podrán llevar a cabo las intervenciones clínicas indispensables en favor de la salud del paciente, **sin necesidad de contar con su consentimiento**, en los siguientes casos:

1. El interés de **la salud del propio paciente**. Cuando existe riesgo inmediato grave para la integridad física o psíquica del enfermo y **no es posible conseguir su autorización**, consultando, cuando las circunstancias lo permitan, a sus familiares o a las personas vinculadas de hecho a él.
2. Cuando existe **riesgo para la salud pública** a causa de razones sanitarias establecidas por la Ley. En todo caso, una vez adoptadas las medidas pertinentes, de conformidad con lo establecido en la Ley Orgánica 3/1986 (RCL 1986, 1315), se comunicarán a la autoridad judicial en el plazo máximo de 24 horas siempre que dispongan el internamiento obligatorio de personas.
3. Por las **exigencias terapéuticas del caso**, en el que la información podría perjudicar la salud.

5.3. Renuncia del paciente.

- Cuando el paciente manifieste expresamente su deseo de no ser informado, **se respetará su voluntad** haciendo **constar su renuncia documentalmente**.
- **Sin perjuicio de la obtención de su consentimiento previo para la intervención.**

5.4 Consentimiento por representación.

Se otorgará el consentimiento por representación en los siguientes supuestos:

a) Cuando **el paciente no sea capaz de tomar decisiones**, urgencia, a criterio del médico responsable de la asistencia, o su estado físico o psíquico no le permita hacerse cargo de su situación. Si el paciente carece de representante legal, el consentimiento lo prestarán las personas vinculadas a él por razones familiares o de hecho.

b) Cuando el paciente esté **incapacitado legalmente**.

c) Cuando el paciente **menor de edad no sea capaz intelectual ni emocionalmente de comprender el alcance de la intervención**. En este caso, el consentimiento lo dará el representante legal del menor después de haber **escuchado su opinión si tiene doce años cumplidos**. Cuando se trate de menores no incapaces ni incapacitados, pero emancipados o con dieciséis años cumplidos, no cabe prestar el consentimiento por representación, salvo las excepciones generales para mayor de edad. Sin embargo, en caso de actuación de grave riesgo, según el criterio del facultativo, los padres serán informados y su opinión será tenida en cuenta para la toma de la decisión correspondiente.

Estos supuestos son generales, existiendo conflictos en determinados supuestos, que última instancia, en caso de duda del médico, deberán ser llevados a vía judicial.

5.5. El consentimiento contendrá la siguiente información básica.

a) Las **consecuencias relevantes** o de importancia que la intervención origina con seguridad. **Descripción** de procedimiento. **Objetivo** del mismo, método y forma.

b) Los **riesgos relacionados con las circunstancias personales o profesionales** del paciente, con identificación del paciente.

c) Los **riesgos probables en condiciones normales**, conforme a la experiencia y al estado de la ciencia o directamente relacionados con el tipo de intervención.

d) Las **contraindicaciones, beneficios** que se espera alcanzar, **alternativas, molestias previsibles**.

e) Es necesario **identificar al paciente o representante, y al médico responsable**, así como centro sanitario donde se realiza. Lugar, fechas y firma.



<http://www.diariomedico.com/2009/09/29/area-profesional/normativa/desinformacion-esta-70-ciento-demandas>

6. Otras cuestiones.

Confidencialidad y secreto

El Dr. Ignacio Santos, Vicedecano de ordenación académica de la Facultad de Medicina de Málaga, ha elaborado una acertada diferenciación, definiendo:

1º La confidencialidad como “un derecho del paciente a proteger el nivel de información sobre su intimidad”.

2º El secreto médico, como “el deber que tiene el sanitario, de no descubrir a terceros aquel conocimiento que recibe de su paciente, incluye no sólo la naturaleza de la enfermedad o solamente lo confiado, sino también lo que haya podido ver, oír o comprender”.

También, la Guía sobre Confidencialidad elaborada por el Consejo General de Colegios de Médicos, define:

1. Intimidad es el ámbito en que los seres humanos gestionan libre y privadamente su mundo de valores y todo lo que tiene que ver, directa o indirectamente, con ellos.

2. Confidencialidad es el derecho de las personas a que aquellos que hayan entrado en conocimiento de datos íntimos suyos, no puedan revelarlos ni utilizarlos sin su autorización expresa.

3. Secreto es el deber de las personas que conocen ciertos datos de otras de no revelarlos sin su consentimiento o sin habilitación legal.

4. Secreto médico es el deber profesional de mantener oculta la intimidad del paciente y de no revelar los datos confidenciales de

éste para fines ajenos a la propia asistencia sanitaria, mientras el paciente no lo autorice o no existan exigencias suficientemente importantes de bien público, como puede ser evitación de daño a terceros o imperativo legal.

En sentido con lo expuesto, nuestro compañero Ricardo de Lorenzo, en el I Congreso Andaluz Derecho Sanitario, celebrado en Granada los pasados días 2 y 3 de junio de 2016, explicó que estamos ante un momento en el que se desarrollaran cambios normativos como consecuencia del accidente de aviación producido hace algunos meses de las líneas aéreas alemanas Germanwings, donde un piloto se suicidó estrellando su avión, cuando tenía una enfermedad mental grave diagnosticada, que no fue comunicada posiblemente para no conculcar el derecho a la confidencialidad de los datos personales de tipo sanitario o por no vulnerar el secreto profesional. Este suceso ha dado lugar a un debate en la Unión Europea, donde se discute la posibilidad de que cuando exista necesidad de proteger intereses generales, los Estados Miembros puedan regular procesos por los que se puedan comunicar datos personales, flexibilizando el actual sistema de protección de datos, siendo un ejemplo, que de existir ese sistema flexibilizado, el médico que atendía al piloto podría haber comunicado la patología de éste a la autoridad, evitándose preventivamente la comisión de daños a terceros. Señaló De Lorenzo por tanto, la diferenciación conceptual del secreto profesional y la confidencialidad a estos efectos, siendo una flexibilización de la confidencialidad lo que existiría en su caso por protección del interés de terceros, y siendo interesante establecer cláusulas informativas de este tipo en la información al paciente

7. Derecho de acceso a la Información

Límites del paciente para tener acceso a su propia historia, que según el artículo 18.3 de la Ley 41/2002 son:

- El derecho al acceso del paciente a la documentación de la historia clínica, no puede ejercitarse en perjuicio del derecho de terceras personas a la confidencialidad de los datos que constan en ella, recogidos en interés terapéutico del paciente.
- (Prosigue el artículo) Ni en perjuicio del derecho de los profesionales participantes en su elaboración, los cuales pueden oponer al derecho de acceso la reserva de sus anotaciones subjetivas.

8. Deontología.

El Código de Ética y Deontología Médica aprobado por la Organización Médica Colegial en 2011, dispone:

Artículo 10. Un elemento esencial de la información es dar a conocer al paciente o a sus allegados la identidad del médico responsable de su proceso.

Artículo 12. 1.- El médico respetará el derecho del paciente a decidir libremente, después de recibir la información adecuada, sobre las opciones clínicas disponibles.

Es un deber del médico respetar el derecho del paciente a estar informado en todas y cada una de las fases del proceso asistencial.

Como regla general, la información será la suficiente y necesaria para que el paciente pueda tomar decisiones.

2.- El médico respetará el rechazo del paciente, total o parcial, a una prueba diagnóstica o a un tratamiento. Deberá informarle de manera comprensible y precisa de las consecuencias que puedan derivarse de persistir en su negativa, dejando constancia de ello en la historia clínica.

Artículo 12. 3.- Si el paciente exigiera del médico un procedimiento que éste, por razones científicas o éticas, juzgase inadecuado o inaceptable, el médico, tras informarle debidamente, quedará dispensado de actuar.

4.- Cuando el médico atienda a una persona en huelga de hambre, le informará sobre las consecuencias del hecho de su previsible evolución y pronóstico. Respetará la libertad de quienes decidan de forma consciente y libre realizar huelga de hambre, incluidas las personas privadas de libertad, pudiendo acogerse a la objeción de conciencia si fuese obligado a contrariar esta libertad.

Artículo 15. 1.- El médico informará al paciente de forma comprensible, con veracidad, ponderación y prudencia. Cuando la información incluya datos de gravedad o mal pronóstico se esforzará en transmitirla con delicadeza de manera que no perjudique al paciente.

2.- La información debe transmitirse directamente al paciente, a las personas por él designadas o a su representante legal. El médico respetará el derecho del paciente a no ser informado, dejando constancia de ello en la historia clínica.

Artículo 16. 1.- La información al paciente no es un acto burocrático sino un acto clínico. Debe ser asumida directamente por el médico responsable del proceso asistencial, tras alcanzar un juicio clínico preciso.

2.- El consentimiento se expresa habitualmente de forma verbal, dejando constancia en la historia clínica. Cuando las medidas propuestas supongan para el paciente un riesgo significativo se obtendrá el consentimiento por escrito.

9. Principales conflictivos jurisprudenciales.

- Testigos de Jehová. STC 18 Julio de 2012.
- Nulidad jurisprudencial de cláusulas de exoneración de la responsabilidad.
- Consentimiento personalizado; riesgos personales específicos.
- Delimitación ámbito civil o penal.
- Medicina voluntaria o satisfactiva, obligación de informar de forma más exhaustiva en la segunda.
- Condena por omisión de información de un riesgo, no por negligencia.
- Modificación del Consentimiento Informado en plena intervención. Criterio de urgencia y necesidad.
- Teoría de la pérdida de oportunidad de elegir y decidir sobre su propia salud.

DISCUSIÓN

1º La información al paciente constituye en sí un intercambio de información, de hecho el consentimiento informado no deja de constituirse como un auténtico contrato, con todos sus elementos, consentimiento, objeto y causa, y por analogía, si aplicáramos la teoría general de los contratos, los consentimientos podrían considerarse nulos si no fueran fruto de un verdadero intercambio de información, por el denominado vicio del consentimiento.

2º Por lo expuesto en la anterior conclusión, el consentimiento informado es una auténtica herramienta de seguridad jurídica en medicina defensiva, pero no estamos seguros de si es una verdadera herramienta de seguridad del paciente, pues lo que interesa al paciente y al médico no es un papel firmado, sino un verdadero intercambio de información que ayude al médico a conocer todos los elementos necesarios de la patología, y que sirva al paciente para conocer los aspectos esenciales de su salud y tratamiento.

3º Es por esto, que el consentimiento informado puede llegar a tener un efecto maquiavélico y dañino para propia información al paciente, lo cual es una verdadera paradoja.

CONCLUSIONES

- La información al paciente es un derecho exigido en nuestro ordenamiento, y al tiempo una exigencia deontológica para el médico.
- El derecho a la información del paciente es bidireccional, y su perfeccionamiento se constituye en la intercomunicación y dialogo médico - paciente.
- El consentimiento informado será verbal como regla general y deberá ser escrito en intervenciones quirúrgicas, procedimientos diagnósticos y terapéuticos invasivos y, en general, aplicación de procedimientos que suponen riesgos o inconvenientes de notoria y previsible repercusión negativa sobre la salud del paciente. Se debe dejar siempre detallado en la historia clínica.
- Consideramos que puede no ser deontológico, reducir el derecho a la información al paciente a un simple consentimiento informado.
- Debemos considerar el secreto, la confidencialidad y la intimidad, como parte de la información al paciente.
- La información clínica forma parte integrante de la *lex artis ad hoc*

Sentencia del TS de 26 de septiembre de 2000:

“Con este actuar profesional el demandado (el médico) asumió por sí solo los riesgos derivados de la intervención en lugar del paciente”

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Calixto Galán Cáceres J. Medicina y Responsabilidad Legal. Autoedición. Abril 2014.
2. Mones Xiol J.(coordinador). Manual de Ética y Deontología Médica. Organización Médica Colegial. 2012.
3. Simon P. Diez mitos en torno al consentimiento informado. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. 2006. Volumen 29. Suplemento 2: 29-40.
4. Siso Martín J. El Derecho del Paciente a ser informado. Octubre 2007.
5. Ley 41/2001, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. B.O.E. nº 274/2002 de 15-11-2002)
6. Código de Deontología Médica. Organización Médica Colegial. Julio 2011.

Antonio Rivera Ramos (1815-1887): una aproximación a la biografía socio-profesional de un miembro de la elite médica sevillana

Antonio Rivera Ramos (1815-1887):
A professional approach to his biography

Juan L. Carrillo
Catedrático de Historia de la Medicina. Sevilla

Resumen

En este trabajo se muestra la biografía de Antonio Rivera Ramos (1815-1887), uno de los primeros especialistas en obstetricia y ginecología, que fue miembro de varias sociedades científica, entre ellas la Real Academia de Medicina de Sevilla y que debió su fama únicamente a su ejercicio profesional ya que no publicó prácticamente nada. Para su confección se han utilizado diversos archivos ubicados en la ciudad de Sevilla así como varios artículos publicados sobre este autor y la Sevilla de la época. Se hace un recorrido por su formación y actividad universitaria, así como por una singular consulta médica, se analiza el contenido de su biblioteca y se muestra su ocaso profesional y familiar.

Abstract

In this work the biography of Antonio Rivera Ramos (1815-1887) appears, one of the first specialists in obstetrics and gynaecology, which was member of several scientific institutions, between them the Royal Academy of Medicine of Seville and that owed his reputation only to his professional exercise since nothing published practically. For his confection there have been in use diverse files located in the city of Seville as well as several articles published about this author and the Seville of the epoch. A tour is done by his formation and university activity, as well as by a singular medical consultation, there is analyzed the content of his library and there appears his professional and familiar west.

Palabras clave: Rivera Ramos, obstetricia y ginecología en Sevilla, Escuela Libre de Medicina y Cirugía de Sevilla.

Keywords: Rivera Ramos, obstetrics and gynaecology in Seville, Escuela Libre de Medicina y Cirugía de Sevilla

INTRODUCCIÓN

En la Sevilla decimonónica hubo médicos que alcanzaron cierta notoriedad, llegando algunos a traspasarlos estrechos límites de la ciudad. Existe un amplio consenso sobre la figura de Federico Rubio y Galí (1827-1902)(1) y sobre Ramón de la Sota y Lastra (1832-1913). El primero como cirujano práctico y prolífico publicista; el segundo por ser el iniciador de una especialidad emergente como era la otorrinolaringología e igualmente activo autor de publicaciones. Menos conocido a nivel nacional e internacional fue José Moreno Fernández (1823-1899)(2), médico de la alta sociedad sevillana y también ensayista y autor de obras médicas. A un tercer grupo podría pertenecer Antonio Rivera Ramos, un conocido médico sevillano que apenas publicó. Había nacido en Sevilla el 29 de diciembre de 1815 y era hijo de Antonio Rivera, natural de Fuente Obejuna (Córdoba), capitán del ejército agregado al Estado Mayor de esta ciudad y de la sevillana María de la Encarnación Ramos, siendo bautizado en la parroquia de San Lo-

renzo dos días después(3). Se trataba de una familia en situación económica desahogada.

CARRERA ACADÉMICA

En 1829, cuando tenía trece años, se le consideró preparado para iniciar en la Universidad Literaria de Sevilla los estudios de Filosofía que abrían el camino para estudiar más tarde en una Facultad Mayor. En esta fecha se le identificaba por su color blanco, pelo castaño y ojos negros. Los tres años de estudios exigidos los cursó y aprobó con Manuel María del Mármol Martínez (1769-1840) durante los años 1829-1830 y 1831-1832(4). Superados éstos inició sus estudios en la Facultad de Medicina en el curso 1832-1833 y los concluyó en el de 1834-1835 recibiendo las enseñanzas de Fernando Velasco Libanto (c. 1800-1836) en Instituciones de 1º año (Anatomía), Manuel Campos Vallejo (c. 1780-1848) en Instituciones de

2º año (Fisiología, Patología e Higiene), Joaquín Sánchez-Reciente Díaz (c. 1801-d. 1844), en Instituciones de 3º (Terapéutica, Materia médica y Medicina legal) y Serafín Adame de Vargas Jiménez (c. 1774-1825) en Instituciones de 4º (Patología especial y Nosografía médica). Recibió el Grado de Bachiller en Medicina a Claustro Pleno *nemine discrepante* el 4 de junio de 1835(5). Realizó los dos años preceptivos de Clínica con Francisco Velázquez Reyes (1779-d. 1840) en los cursos 1835-1836 y 1836-1837(6) lo que le permitió obtener el Grado de licenciado el 9 de noviembre de 1840(7) y el de doctor el 3 de enero de 1841(8). En 1840-1841 se matriculó en la cátedra de “Nosografía y Patología especial externa. Vendajes y Operaciones” creada por iniciativa de la Junta Revolucionaria de Sevilla obteniendo la calificación de sobresaliente y en el curso 1841-1842 obtuvo igual calificación en la de “Obstetricia, enfermedades de las mujeres y niños y sífilíticas”(9). Evidentemente aprovechó la coyuntura favorable con la intención de convertirse también en licenciado en cirugía(10). En 1841 hizo oposición a la cátedra de Terapéutica, Materia médica y Medicina legal, vacante tras ser separado por cuestiones políticas su propietario Joaquín Sánchez-Reciente, presentado un programa de la asignatura(11). Sus ambiciones académicas se vieron parcialmente cumplidas cuando en 1844 fue nombrado profesor Agregado para la cátedra Higiene, Terapéutica, Materia médica y Arte de recetar en el recién creado Colegio de prácticos en el arte de curar(12).

Con anterioridad, había sido nombrado Académico numerario de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla en 1840 por la Junta Suprema de Sanidad del Reino, en el marco de un conjunto de nombramientos efectuados por esta institución tras el centralismo impulsado aquel año por Espartero, cuando era un modesto licenciado en medicina sin ningún tipo de méritos; acaso el único era haber sufrido y aprobado un examen de reválida teórico y práctico el día 2 de octubre de 1839 ante un tribunal compuesto por los académicos Fernando Santos de Castro (1809-1890), Antonio Navarrete Sánchez (c. 1788-1878) y Francisco de Borja Muñoz (m. 1850)(13).

RIVERA RAMOS, PROFESOR UNIVERSITARIO

Habrían de transcurrir veintiocho años para que Rivera Ramos viera cumplido íntegramente su deseo. Fue uno de los veintitrés médicos que ejercían en Sevilla invitado expresamente por el Rector de la Universidad y vocal de la Junta Revolucionaria Antonio Machado Núñez (1812-1896) a la sesión constitutiva de una *Sociedad Médica de Libre Enseñanza* celebrada el día 28 de octubre de 1868(14). Por decreto del Gobierno Supremo Provincial de 10 de octubre de 1868 fue nombrado catedrático de *Clínica de obstetricia* de la recién creada Escuela Libre de Medicina y Cirugía de Sevilla(15). En claustro de 26 de enero de 1870, ante la renuncia de Carlos Montemar Moraleda (c. 1824-d. 1884), se le nombró catedrático de *Enfermedades de la mujer con su clínica* y de *Obstetricia y su clínica* concentrando toda la enseñanza relacionada con las mujeres (16). Pronto el proceso de liberalización de la enseñanza sufriría un giro copernicano. Se encendieron todas las alarmas tras la aparición de un decreto que pretendía regularizarlo lo que tuvo como consecuencia el cierre de buena parte de los establecimientos libres de enseñanza superior. Este decreto dejaba la puerta abierta para aquellos que se sometieran a un duro expediente de reconversión(17). La Escuela Libre de Medicina de Sevilla consiguió que se autorizara provisionalmente la enseñanza durante el curso 1874-1875 y por ello el 23 de octubre de 1874 se le dio posesión y quedó reconocido como catedrático de *Partos, enfermedades de las mujeres y niños* tras la designación por la Dirección General de Instrucción Pública de la plantilla elaborada por la Diputación Provincial de Sevilla(18). Por fin, y tras superar diversos trámites administrativos, nació la Escuela Provincial de Medicina y Cirugía de Sevilla viéndose obligada a adaptar su plan de estudios a los que regían para la enseñanza oficial. Por Orden de la Dirección General de Instrucción Pública de 7 de octubre de 1875 se le confirmó como catedrático interino de *Partos, enfermedades de las mujeres y niños*(19), permaneciendo hasta la fecha de su muerte. Durante estos años Rivera Ramos ocupó dos cargos directivos de enorme trascendencia: el de vice-director, contemplado en el reglamento para su régimen y gobierno interior de 1870(20) y el de

director tras la inesperada muerte de Antonio Marsella Sierra (1808-1874) el 28 de noviembre de 1874.

LOGROS INSTITUCIONALES

Posiblemente los quince años que van entre 1875 y 1890 fueron en los que se alcanzaron los logros más significativos en la Escuela. En primer lugar la creación de la Policlínica, la “joya de la Escuela”, por iniciativa de Rivera Ramos en 1878 y de la que tan orgullosos se sentían. Su puesta en marcha fue una respuesta a la pérdida de autonomía, el precio que hubo de pagarse para garantizar su continuidad. Ésta se aprobó en claustro el 29 de septiembre de 1878 y se inauguró el día 6 de octubre en un acto conjunto con la repartición de premios. En tan corto espacio de tiempo se hicieron las obras de adaptación —una escalera y diversos tabiques a cargo de la Diputación— y se adquirió mobiliario a cargo del Ayuntamiento. Se instaló en un pabellón del edificio de la Escuela de Medicina en la calle Madre de Dios con tres pisos y con acceso por una puerta contigua a la principal. La Policlínica estaba estructurada por una clínica general y ocho clínicas especializadas con un doble objetivo asistencial (asistencia gratuita a pobres) y docente. La clínica de “enfermedades de la mujer” se le encomendó a Antonio Rivera Ramos que la atendía los lunes y jueves a las tres de la tarde en el gabinete habilitado en la planta alta del edificio. En 1882 se modificó este horario a las dos de la tarde al mismo tiempo que pasó a manos de Francisco Domínguez Adame (1850-1905), cambiando su denominación por “ginecología”(21).

Otros logros institucionales alcanzados por iniciativa de Rivera Ramos fueron la celebración en 1882 del Congreso Médico Internacional, del que fue Presidente de la Comisión Organizadora y de la Mesa del Congreso y la creación en 1883-1884 de una sección de electroterapia en la Policlínica. Financiado por la Diputación se construyó en 1885 el anfiteatro anatómico en terrenos próximos al Hospital Central que posibilitó una mejora de la enseñanza de la anatomía y la anatomía quirúrgica y operaciones. Por último en el curso 1887-1888 se erigió un laboratorio histo-químico adjunto a las clínicas y a la policlínica que de forma muy modesta contribuyó a “perfeccionar el diagnóstico”(22). Por otra parte fue una pieza fundamental en el desarrollo del Colegio Médico de Sevilla. Su inauguración se efectuó el 4 de mayo de 1856 en un local cedido por la Universidad en el que celebró sus sesiones hasta 1858, año en que se ubicó en la calle Armas 55 compartiendo locales con Real Academia de Medicina(23) y doce años después, aún conservando esta sede, celebraba sus sesiones en la Escuela Libre de Medicina. Desde el primer momento Rivera Ramos formó parte de la Junta directiva en condición de Consiliario 2º, pero la cercana muerte del decano Nicolás Molero Perea (1791-1856) hizo que pasase a ocupar el cargo de vice-decano, para alcanzar el puesto de decano en 1870 tras la retirada de Antonio Serrano Palao (c. 1804-1877). Esta institución tenía como objetivos estatutarios representar a la clase médica, fomentar sus intereses materiales y morales, contribuir al progreso de la ciencia y velar por el cumplimiento de los deberes médicos. Durante los años de actividad —prácticamente desaparece desde 1877— se preocupó por la elaboración de una topografía médica de Sevilla(24), redactó un reglamento de prostitución(25) y convocó concurso de premios(26).

UNA SINGULAR CONSULTA MÉDICA

Con el título ¡Fregenal en Sevilla! el diario *La Andalucía* reproducía una larga crónica aparecida días antes en el periódico frexnense *El Eco de Fregenal*. Los días 27 y 28 de diciembre de 1880 se había efectuado con éxito una comunicación telefónica experimental, sin duda una de las primeras realizadas, entre el domicilio de don Rodrigo Sánchez-Arjona y Sánchez-Arjona (1841-1915) en Fregenal y el despacho del director de telégrafos en Sevilla don Francisco Pérez Blanca. En ambos puntos se dieron cita notables personalidades de las dos ciudades. En Fregenal, familiares, autoridades locales y el director del periódico y en Sevilla, aparte de los funcionarios de telégrafos, directores y redactores de periódicos, ingenieros, escritores, el Presidente de la Audiencia, el Vice-presidente de la Diputación, el Interventor de Hacienda

y médicos como los doctores don Antonio Machado Núñez y don José M^a Roby Beltrán (1830-d. 1884). Todos quedaron entusiasmados por el hecho y testimoniaron las buenas condiciones de la audición(27). Entre otros asuntos se recogía en la crónica lo siguiente:

“no causará sorpresa el saber que también se celebró una consulta médica entre el ilustre profesor de esta ciudad don Enrique de la Rosa, y el reputado y dignísimo Director de la Escuela de Medicina de Sevilla don Antonio María Rivera, los cuales conferenciaron sobre el estado de la esposa del citado Sr. D. Rodrigo, doña Fernanda Sánchez-Arjona, cuya salud no es, por desgracia, muy completa, y a quien deseamos pronto restablecimiento”(8)

En efecto, el prócer extremeño había contraído matrimonio con su prima Fernanda Sánchez-Arjona Cabeza de Vaca (1847-1881) el 25 de abril de 1864 y en aquella fecha había tenido siete hijos vivos, el último de ellos nacido en 1878, una historia obstétrica muy común en aquellos años. Igualmente sabemos que no gozaba de buena salud y desde luego debía tratarse de una afección grave ya que falleció el 21 de mayo de 1881. Lo que no conocemos es el contenido de aquella consulta efectuada a la una de la tarde del día 28 de diciembre de 1880 a pesar de la diligencia del doctor de la Rosa que un día después enviaba una carta al director de la revista *El Siglo Médico* en la que daba a conocer el suceso, pero la única referencia a doña Fernanda fue que recibía cuidados de ambos y que “hice una historia detallada de la enferma”(29). Posiblemente haya que descartar que se tratara de un problema obstétrico, aunque sí podía ser ginecológico o incluso de otra naturaleza. Pero la presencia de Rivera Ramos en el acto se debía no tanto a su condición de “partero” como al hecho de ser en ese momento el Director de la Escuela Provincial de Medicina y Cirugía de Sevilla.

SU BIBLIOTECA MÉDICA

Desgraciadamente no conocemos cual era la dimensión de su biblioteca médica al final de su vida profesional y nos tenemos que contentar con analizarla cuando en 1868 se efectuó una protocolización de particiones de los bienes que quedaron tras el fallecimiento de su primera esposa. En el documento de liquidación, división y adjudicación de estos bienes se encuentra inventariada su biblioteca médica. El número total de autores es de sesenta estando a la cabeza Xavier Bichat con cinco títulos y Hermann Boerhaave y Joseph Capuron con tres cada uno; cuarenta y uno de ellos eran extranjeros (en su mayoría franceses), catorce españoles, cuatro obras anónimas y un autor sin identificar. Si atendemos a la fecha de publicación diez eran ediciones, la mayor parte latinas, del siglo XVIII y el resto de la primera mitad del XIX. Los autores del siglo XVIII fueron tres españoles (Andrés Piquer, Juan de Dios López y Francisco Suárez de Ribera) y siete extranjeros (Paolo Zacchia, Thomas Sydenham, Hermann Boerhaave, Johannes Gorter, Gerard van Swieten, Anton de Haen y François Boissier de Sauvages). La distribución por campos temáticos es la siguiente: Terapéutica (materia médica, farmacología y farmacopeas), once títulos (16%); Anatomía descriptiva y topográfica, siete (10'2%); Patología médica, siete (10'2%); Patología general (exploración clínica, nosología y anatomía patológica), seis (8'8%); Cirugía, seis (8'8%); Obstetricia (partos), cuatro (5'8%); Higiene, tres (4'4%); Medicina Legal, tres (4'4%) y Diccionarios, dos (2'9%). El resto de campos sólo contemplan una sola pieza.

En el análisis de esta biblioteca médica hay que destacar las siguientes características:1) que en la fecha en que se hizo el inventario era una biblioteca bastante modesta compuesta de 68 libros con un montante de 179 volúmenes valorada, a efectos del reparto de bienes, en 78'6 escudos; 2) la ausencia de periodismo médico, 3) el hecho de que en su mayoría son traducciones al castellano de obras francesas y 4) que es escasa la representación de obras obstétrico-ginecológicas tratándose su propietario de un especialista en estas materias. Sobre este último asunto sólo se contabilizan las siguientes obras: Joseph Capuron *Curso teórico y práctico de partos* (1818), 2 volúmenes; Jules Hatin *Manual de partos* (1829); François Joseph Moreau *Tratado*

práctico de partos (1842), 2 volúmenes; Nicolas Charles Chailly *Tratado práctico del arte de partear* (1846), 3 volúmenes y Joseph Capuron *Tratado de las enfermedades de las mujeres* (1818), 2 volúmenes.

DE LA ELITE MÉDICA AL OCASO DE UNA FAMILIA

Rivera Ramos formó parte de un minúsculo grupo de nueve médicos de Sevilla que constituyeron una auténtica élite. Un grupo de gran visibilidad e influencia social a través de la ocupación de puestos oficiales y de cargos. Residían en el ámbito de parroquias con mejor equipamiento general y sanitario y disponían de una economía muy saneada(30). La familia de Rivera Ramos tuvo su residencia en la collación de San Andrés, primero en la calle Pozo Santo(31), después en la calle Quebrantahuesos 6 (calle Orfila 9 después de una modificación del nomenclátor en 1872)(32), adquirida en 1853 a la familia Adame Muñoz (Enrique, Serafina, Consolación y Ramona), y al final de su vida en Amor de Dios 14. Su matrimonio, al que aportaron en enseres y ropa por valor de 6.000 reales cada contrayente(33), lo efectuó en la parroquia castrense de Cádiz el 4 de marzo de 1847 con María de los Milagros Dardés Carsi, viuda de don Pablo Bara, que aportaba un hijo (José Antonio) al nuevo matrimonio y con la que tendría tres más entre 1846 y 1855, Inocencia, José Luis y Milagros. El patrimonio acumulado a la muerte de su esposa el 26 de febrero de 1860 era de 31.033'8 escudos, descompuesto en 5.825'3 escudos en metálico, el inmueble de la calle Quebrantahuesos valorado en 15.208'3 escudos(34), el carruaje compuesto por una berlina francesa (100 escudos), una carretela (100 escudos) y las mulas Leona y Borrega valoradas en 300 escudos cada una. El resto de su patrimonio se componía de enseres domésticos (alhajas y plata labrada, mobiliario, loza y cristal, cocina y despensa, cuadros de lienzo, láminas, ropas, biblioteca médica y biblioteca de recreo)(35).

Hacia 1864 contrajo nuevamente matrimonio con otra gaditana, Efigenia Cavieces Asensio, veinticinco años menor que él, y de cuya unión nacieron sus hijos José Martín, María Luisa y Antonio entre 1867 y 1872. Si en 1865 disponía de una servidumbre compuesta por dos mujeres (María Delgado, viuda de 46 años y Narcisca de los Santos Fernández, soltera de 19 años, ambas de Huelva) y dos hombres (Francisco Beira, soltero de 22 años natural de Vigo), uno de ellos cochero (José Bravo Granada, casado de 32 años), veinte años después había quedado reducida a sólo dos mujeres (Valle Melero Prieto, viuda de 40 años natural de Écija y Encarnación Molina Rodríguez, soltera de 19 años natural de Lora del Río)(36). Rivera Ramos falleció en Sevilla el 2 de agosto de 1887, constandingo como causa de su muerte una “esclerosis cerebral”(37). Sin embargo parece que la situación económica de la familia se fue deteriorando aún más con el paso de los años. El 6 de octubre de 1904 su viuda se dirigió a la Academia de Medicina solicitando ocupar las buhardillas de la misma por carecer de medios para pagar una vivienda(38).

Llama la atención el que su familia acabara en la pobreza en tan poco tiempo. Por lo que se ve, sucedió algo muy distinto a lo que Espina y Capo refiere en sus *Notas del viaje de mi vida*, afirmando que en esa época los primeros especialistas, al menos en Madrid, alcanzaron casi todos puestos de importancia, algunos incluso títulos nobiliarios y, por lo menos fortunas considerables, de las que seguramente vivieron las generaciones posteriores(39).

UN HOMBRE CON NOMBRE, PERO SIN OBRA ESCRITA

El doctor Antonio Rivera Ramos fue Protector del Colegio de Dentistas de Sevilla creado en 1865 y su Presidente Honorario(40), Médico Honorario de la Real Cámara de SS. AA. RR. los duques de Montpensier y como tal intervino en algún parto de la Infanta María Luisa Fernanda: está constatado que asistió al de su octavo hijo, Antonio María Luis ocurrido en San Telmo el 23 de febrero de 1866, junto a Antonio Serrano Palao. Como era habitual en estos casos fue recompensado con el nombramiento de Comendador de las Reales Órdenes de Carlos III e Isabel la Católica(41). Pero este personaje su notoriedad y visibilidad no devenía de una actividad publi-

cista. A lo largo de su dilatada carrera profesional sólo conocemos la corta publicación de un caso clínico(42)(43). El 17 de agosto de 1865 envió un artículo a la revista sevillana *La Crónica Médica* y los redactores se hicieron eco del mismo diciendo: “deseamos no sea éste sólo el trabajo que nos remita nuestro ilustrado compañero, a quien no faltarán con frecuencia casos notables en la especialidad que practica”(44). El día 19 de julio de 1865 es llamado para celebrar una consulta médica a instancias de un compañero. Se trataba de una mujer embarazada a término en la que se habían iniciado los primeros dolores de parto hacía unas ocho horas. A la exploración encontró una vulva más estrecha que lo ordinario, el conducto vaginal acortado (no alcanzaba dos pulgadas [aproximadamente 4 cm.]), anchos repliegues en su fondo y obturación completa del mismo. Estimó que era necesario hacer una dilatación amplia del fondo vaginal para facilitar la expulsión del feto y en tal sentido decidió “escindir un colgajo vaginal, procurando que correspondiese al punto en que debía hallarse el orificio y cuello uterino”. Como no disponía de espéculum y pinzas largas, la operación obstétrica la realizó manualmente utilizando exclusivamente unas tijeras planicurvas pequeñas. El parto continuó con normalidad terminando media hora después de la intervención y nueve desde que se presentaron los primeros dolores de parto(45).

La historia ginecológica de esta mujer era la siguiente: desde los 12 años de edad comenzó a sufrir unos trastornos mensuales de dos o tres días de duración sin que se acompañara de flujo menstrual. Contrajo matrimonio a los 17 ó 18 años teniendo grandes dificultades para realizar el coito sin que el marido pudiera traspasar la abertura vulvar a pesar de realizar grandes esfuerzos. Tras siete u ocho meses realizó una consulta médica siendo desviada a un cirujano que encontró un “tabique considerable con un pequeño orificio central. Fue intervenida practicándole una dilatación por medio de una pequeña abertura del mismo con resultados poco satisfactorios: no menstruó y el coito continuó siendo dificultoso. Cinco años más tarde, a primeros de noviembre de 1864, se presentó espontáneamente una menstruación abundante “de un putrúlogo hediondo”. De inmediato quedó embarazada que siguió un curso normal hasta el momento del parto(46). Sin duda un complejo caso de ginatresia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carrillo, Juan L. (ed.) *Medicina y Sociedad en la España de la segunda mitad del siglo XIX: una aproximación a la obra de Federico Rubio y Galí (1827-1902)*. El Puerto de Santa María: Ayuntamiento de El Puerto de Santa María y Asociación para la Formación, Investigación y Asistencia Médica de Andalucía “Federico Rubio”, 2003; Carrillo, Juan L. *et. al. Federico Rubio y Galí (1827-1902): Estudio documental y bibliográfico*. El Puerto de Santa María: Concejalía de Cultura del Ayuntamiento, 2002
- Carrillo, Juan L. *Medicina y enseñanza de la medicina en Sevilla (1868-1883): continuidad y cambio*. *Dynamis*, 10, 163-192 (1990), especialmente pp. 175-178; Carrillo, Juan L. José Moreno Fernández (1823-1899). En: *Diccionario Biográfico Español*. Madrid: Real Academia de la Historia, 2012, vol. XXXVI, pp. 331-334; Bernal Borrego, Encarnación; Calero Delgado, M^a Luisa. El discurso sobre la mujer en la obra de José Moreno Fernández (1823-1899). En: Campos, R.; Montiel, L.; Huertas, R. (coords.) *Medicina, ideología e historia (siglos XVI-XXI)*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2007, pp 169-181
- Archivo Histórico Universidad de Sevilla (en adelante AHUS). *Índice de carreras*, libro 841, fol. 98
- AHUS. *Índice de carreras*, libro 841, fols. 102-102^v, 103, 106, 107 y 109. En el primer año cursó lógica y matemáticas, en segundo física general y particular y en el tercero metafísica y ética, todo ello de acuerdo con lo establecido en el Título IV (arts. 32-43) de la Real Orden de 24 de octubre de 1824
- AHUS. *Índice de carreras*, libro 841, fols. 110, 113 y 119-122; *Pruebas de curso de Medicina (1833-1845)*, libro 512, fols. 6, 20 y 25
- AHUS. *Índice de carreras*, libro 841, fol. 114; *Matrículas (1802-1845)*, libro 509, fols. 169 y 182 [Pruebas de curso de clínicas] Un expediente académico se encuentra en el Archivo Histórico Nacional. *Universidades*, 1243, exp. 72, que contiene las calificaciones de estudios y su partida de bautismo
- AHUS. *Grados Mayores en todas las Facultades [Licenciados]*, libro 634, fol. 555
- AHUS. *Grados Mayores en todas las Facultades [Doctores]*, libro 633, fol. 399
- AHUS. *Listas de exámenes (1795-1845)*, libro 523, s. f. [7 de julio de 1841 y 3 de junio de 1842]
- Sobre estas cátedras de efímera existencia véase Carrillo, Juan L. De la consolidación a la cesantía: evolución del profesorado de medicina en la Universidad Literaria de Sevilla (1833-1845). *Asclepio*, 54 (I), 251-268 (2002), pp. 260-264
- AHUS. *Índice de carreras*, libro 841, fol. 99
- AHUS. Colegio de prácticos de medicina de Sevilla. *Juntas y Grados*, libro 955, s. f., sesiones de 29 de febrero y 1 de marzo de 1844
- Muñoz González, Pedro. Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla. Académicos numerarios ingresados en el siglo XIX. En: *Memorias académicas de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla*. Sevilla: Real Academia de Medicina-Fundación El Monte, F.O.C.U.S., Abengoa, 2004, p. 216; Domínguez-Rodión, Eloy. Antonio Rivera Ramos, partero de la Infanta María Luisa Fernanda. *Chequeo*, 1, 27-31 (1983), p. 27; *Reglamento aprobado, y mandado observar por el Rey Nuestro Señor para el régimen científico, económico, e interior de los Reales Colegios de Medicina y Cirugía, y para el gobierno de los profesores que ejerzan estas partes de la ciencia de curar en todo el Reino*. Madrid: Imprenta Real, 1827, pp. 140-142, art. 2. Este artículo del Capítulo XXI contemplaba que los que habían cursado en las Universidades los cuatro años de Instituciones y los dos años de Clínica –situación en la que se encontraba Rivera Ramos–podían presentarse a los exámenes de reválida bien en los Colegios, bien en las Subdelegaciones -debiendo entenderse Academias de Medicina según lo dicho en el Capítulo VIII del reglamento citado a continuación- en aquellas ciudades que las hubiese; *Reglamento general para el régimen literario de las Reales Academias de Medicina y Cirugía del Reino*. Madrid: Imprenta Real, 1830, p. 57, arts. 1 y 2. Estos artículos contemplan lo referente a los exámenes de reválida de los médicos en las Academias
- Archivo Histórico de la Facultad de Medicina de Sevilla (en adelante AHFMS). *Libro de Actas*, 1, fols. 1-1^v
- Boletín Oficial de la Provincia de Sevilla*, nº 253 de 6 de noviembre de 1868, p. 4
- AHFMS. *Títulos, méritos y servicios del personal de la Escuela Provincial de Medicina de Sevilla*, libro 62, fol. 4. Sobre la enseñanza de la obstetricia y ginecología en Sevilla puede consultarse Carrillo, Juan L.; Bernal Borrego, Encarnación. Una historia de la enseñanza toco-ginecológica en Sevilla (ss. xix-xx). *Archivo Hispalense*, 97 (294-296), 99-121 (2014)
- Decreto de 29 de julio de 1874, regularizando el ejercicio de la libertad de enseñanza. En: *Compilación Legislativa de Instrucción Pública*. Tomo I. Disposiciones generales, Administración y gobierno. Madrid: Imprenta T. Fortanet, 1876, pp. 173-179
- En claustro general de fecha 23 de octubre de 1874 se dio

- lectura a un telegrama de la Dirección General de Instrucción Pública en la que eran designados los profesores de acuerdo a la plantilla formada por la Diputación Provincial de Sevilla a los que se les dio posesión. AHFMS. *Libro de Actas*, 1, fols. 80^a-81
19. Real Orden de 14 de septiembre de 1875, por la que se autoriza a la Diputación de Sevilla a instalar en la capital con carácter público y oficial los estudios de la licenciatura de medicina y cirugía (*Gaceta de Madrid* de 18 de septiembre de 1875). En claustro general de 17 de octubre de 1875 se informó que el Ministro de Fomento había tenido a bien aprobar el cuadro de interinos que para el desempeño de las cátedras de la Escuela Provincial de Medicina de Sevilla le había propuesto el Rector en fecha 21 de septiembre de 1875. AHFMS. *Libro de Actas*, 1, fols. 87^a-88^a
 20. ESCUELA DE MEDICINA Y CIRUGÍA DE SEVILLA. Enseñanza Libre. *Órdenes sobre su organización y Reglamentos para su régimen de gobierno, y para el de las Clínicas y el Departamento Anatómico, aprobadas por la Excm. Diputación Provincial*. Sevilla: Imprenta y Librería Española y Extranjera, 1870
 21. ESCUELA PROVINCIAL DE MEDICINA DE SEVILLA. *Memoria estadística del curso 1877 a 1878, leída con ocasión de la repartición de premios e inauguración de las policlínicas, en sesión pública celebrada el domingo 6 de octubre de 1878 por el Doctor D. Antonio Rivera Ramos*. Sevilla: Juan Moyano, 1878; UNIVERSIDAD LITERARIA DE SEVILLA. *Escuela de Medicina. Curso 1887 a 1888. Trabajos prácticos efectuados en el Anfiteatro Anatómico, en los Laboratorios, en las Clínicas y en la Policlínica*. Sevilla: [Imp. Almudena 5], 1888, pp. 239-240; Carrillo, Juan L. Asistencia y enseñanza clínica de las especialidades en la Escuela de Federico Rubio: la "Policlínica" como institución innovadora en España (1878-1903). En: Carrillo, J. L. (ed.) *Medicina y Sociedad en la España de la segunda mitad del siglo XIX: una aproximación a la obra de Federico Rubio y Galí (1827-1902)*. El Puerto de Santa María: Ayuntamiento de El Puerto de Santa María y Asociación para la Formación, Investigación y Asistencia Médica de Andalucía "Federico Rubio", 2003, pp. 239-268; Bernal, Encarnación; Carrillo, Juan L. Un dispensario en Sevilla para las enfermedades de las mujeres: la "Policlínica" como espacio de enseñanza y asistencia (1883-1895). *Archivo Hispalense*, 90 (273-275), 11-39 (2007)
 22. Sobre todos estos aspectos véanse Carrillo, Juan L. Medicina y enseñanza de la medicina en Sevilla (1868-1883): continuidad y cambio. *Dynamis*, 10, 163-192 (1990); Carrillo, Juan L. La enseñanza de la medicina en Sevilla. En: Danón, J. *La enseñanza de la medicina en la Universidad española*. Barcelona: Fundación Uriach 1938, 2001, pp. 79-97; Carrillo, Juan L.; Trigueros Gordillo, Guadalupe. La Universidad de Sevilla en el Sexenio Democrático (1868-1874). En: Serrera, R. M.; Sánchez Mantero, R. (coords.) *La Universidad de Sevilla 1505-2005*. Sevilla: Universidad de Sevilla y Fundación El Monte, 2005, pp. 299-325
 23. AHUS. *Expedientes varios*, libro 1081 [Oficio de Nicolás Molero Perea a Rector de 1 de mayo de 1856; Oficio de Antonio Serrano Palao a Rector de 13 de noviembre de 1858]
 24. Archivo Municipal de Sevilla (en adelante AMS). *Colección alfabética*, varios, nº 389 [Oficio de Antonio Serrano Palao al Ayuntamiento de 31 de marzo de 1859]
 25. *La Crónica Médica*, 1(30-31), 275-280, 295-297 (1964) [Oficio de Antonio Serrano Palao a Gobernador Civil y Presidente del Ayuntamiento de 17 de febrero de 1859 e informe que incluye el "Reglamento orgánico de policía y sanidad respecto de la prostitución"]
 26. *La Crónica Médica*, 1(3), 23 (1864)
 27. Holgado Brenes, José Manuel. *¡Aquí Sevilla...oiga Fregenal!: albores de la telefonía en España*. Sevilla: Guadalturia, 2011, pp. 83-94, 97, 103-104 y 119
 28. ¡Fregenal en Sevilla! Maravillas de la Ciencia. *La Andalucía*, nº 7351, Sevilla, martes 4 de enero de 1881. El término "profesor" debe entenderse simplemente como "médico"
 29. Milagros de la Ciencia. *El Siglo Médico*, nº 1411, Madrid, 9 de enero de 1881 [Carta de Enrique de la Rosa a Francisco Méndez Álvaro de 29 de diciembre de 1880] En 1884 Felipe Hauser y Kobler (1832-1925), conoedor, sin lugar a dudas, de este acto sanitario a distancia reclamó para Sevilla la instalación de varios puestos telefónicos en los barrios de la ciudad para poder establecer una comunicación rápida con las casas de socorros, así como en los baños públicos de la orilla del río. Hauser, Ph. *Estudios médico-sociales de Sevilla*. Madrid: Imprenta de Manuel Ginés Hernández, 1884, p. 359
 30. Carrillo, Juan L. Los profesionales sanitarios en Sevilla (1865): perfil sociológico de la elite médica. En: Castellanos, J. et al. (coords.) *La medicina en el siglo XX. Estudios Históricos sobre Medicina, Sociedad y Estado*. Málaga: Sociedad Española de Historia de la Medicina, 1998, pp. 569-576
 31. Montoto y Vigil, Pedro. *Manual histórico-topográfico, estadístico y administrativo o sea Guía General de Sevilla*. Sevilla: Imprenta, librería y litografía de D. Carlos Santigosa, [1851], p. 22 [Facultativos de medicina]
 32. AMS. *Censo General de la Población de Sevilla [Padrones de vecinos]*, P/1515, calle Quebrantahuesos 6 [Hoja firmada el 7 de enero de 1865]
 33. Archivo Provincial de Sevilla (en adelante APS). *Protocolos notariales*, año 1868, libro 7288, fols. 1321-1332 [Presupuesto 4º (Clausula 5ª del testamento otorgado ante el notario Francisco Sánchez de Nieva en 19 de agosto de 1854)]
 34. APS. *Protocolos notariales*, año 1868, libro 7288, fols. 1321-1432 [Protocolación de particiones ante el notario Pedro María de Vega Baro. Liquidación, división y adjudicación de bienes] La descripción y valoración del inmueble en fols. 1365-1367
 35. APS. *Protocolos notariales*, año 1868, libro 7288, fols. 1321-1432 [Protocolación de particiones ante el notario Pedro María de Vega Baro. Liquidación, división y adjudicación de bienes]
 36. AMS. *Censo General de la Población de Sevilla [Padrones de vecinos]*, L/3628, calle Amor de Dios 14 [Hoja firmada el 28 de diciembre de 1886]
 37. Gómez Zarzuela, Vicente. *Guía de Sevilla, su provincia para 1888*. Sevilla: Imp. y Lit. de José Ariza, 1888, p. 399
 38. Domínguez-Rodiño, Eloy. Antonio Rivera Ramos, partero de la Infanta María Luisa Fernanda. *Chequeo*, 1, 27-31, (1983), p. 31. No he podido fundamentar documentalmente este asunto por pérdida de la documentación en la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla
 39. Espina y Capo, Antonio. *Notas del viaje de mi vida: 1850 a 1920*. Madrid: Talleres Espasa-Calpe, 1929, vol. IV, pp. 467-560.
 40. Gómez Zarzuela, Manuel. *Guía de Sevilla*. Sevilla: La Andalucía, 1866, p. 236
 41. Domínguez-Rodiño, Eloy. Antonio Rivera Ramos, partero de la Infanta María Luisa Fernanda. *Chequeo*, 1, 27-31, (1983), pp. 27-28. El autor exagera las relaciones entre Rivera Ramos y los Montpensier. Tenemos constancia que los primeros partos de la Infanta María Luisa Fernanda fueron sistemáticamente atendidos por los doctores Serrano y Molero en San Telmo. En el caso del segundo acaecido el

28 de agosto de 1851 (María Antonia) también participó el catedrático de obstetricia, enfermedades de niños y mujeres de la Facultad de Medicina de Cádiz Andrés Joaquín Azopardo Fabre (n. c. 1799-1886). El alumbramiento de su sexto hijo el 24 de junio de 1860, María de las Mercedes, el único que tuvo lugar en el Palacio Real de Madrid, fue asistido por doctores Tomás del Corral y Oña, Marqués de San Gregorio (1807-1882), Juan Drumen Millet (1798-1863) y Antonio Serrano, que era en ese momento el Médico de Cámara de los Montpensier, desplazándose a Madrid para cumplir con su función asistencial. Una cronología de los nacimientos y fallecimientos de los hijos de los Duques de Montpensier puede verse en Domínguez-Rodiño y D. Adame, Eloy. Lirios y mirras para una infanta sevillana. *ABC (Sevilla)* sábado, 19 de junio de 1993, pp. 60-61

42. Rivera Ramos, Antonio. Conformación anormal de la vagina; imperforación: accidentes graves en el momento del parto, operación y terminación feliz para la madre y el feto. *La Crónica Médica*, 2(48), 248-249 (1865)
43. *ibidem*, p. 248
44. *Ibidem*, p. 249
45. *Ibidem*, p. 248

Opinión Médica

Revista de la Fundación Educativa y Científica del Ilustre Colegio Oficial de Médicos de la provincia de Granada



Opinión Médica
FUE NOTICIA

Sesiones clínicas en la nueva sede: un presente enraizado en el pasado con proyección de futuro

Se ha pasado de dos especialidades a cuatro, posiblemente se amplían en el nuevo ciclo.



Al final de la primera sesión clínica de Medicina Interna celebrada en la nueva sede de nuestro colegio, el día 1 de julio de 2013, se entregó una placa conmemorativa al Dr. Juan Jiménez Alonso, como coordinador y moderador de las sesiones clínicas de la mencionada especialidad.

Recordamos que las sesiones clínicas eran, en tiempos pretéritos, una práctica habitual en nuestra institución, hasta que, impulsadas por el Dr. Juan Jiménez Alonso y la Comisión de Docencia de nuestro colegio al inicio de la primera legislatura de la actual presidencia del Dr. Javier de Teresa Galván, volvieron a reinstaurarse.

Desde que se celebran en la nueva sede, a las dos especialidades que ya celebraban sesiones clínicas en la antigua sede (Medicina Interna, y Cirugía Ortopédica y Traumatología), se han unido las de Pediatría y Atención Primaria. Y según las previsiones, se verán ampliadas en el nuevo ciclo 2014-15 con nuevas especialidades.

La Consejera de Salud, con los alumnos del aula MIR



La Consejera de Igualdad, Salud, y Políticas Sociales de la Junta de Andalucía, D^o María José Sánchez Rubio, visitó el pasado 10 de octubre de 2013 a los alumnos del AulaMIR del Colegio de Médicos de Granada, en el marco de la visita que realizó a las instalaciones de nuestra nueva sede colegial.

En el transcurso de la visita se dirigió a los alumnos y les informó que tanto la Junta de Andalucía como los colegios de médicos andaluces apostaban firmemente por un modelo sanitario público de alta calidad, viable y saneado.

También les animó en sus estudios, en la creencia de que el futuro de los profesionales tendrá días muchos mejores que los presentes en los que la crisis económica ha obligado a tomar decisiones difíciles, y donde los profesionales jóvenes ven muy dificultado su acceso estable al mercado laboral.

La revista de los médicos colegiados de la provincia de Granada

PUBLICACIÓN CUATRIMESTRAL

EDICIÓN IMPRESA Y ONLINE



COLEGIO OFICIAL DE MÉDICOS DE GRANADA

Análisis de la efectividad de la inmunoestimulación activa con extractos bacterianos en la prevención de las infecciones urinarias recurrentes

Analysis of effectiveness of bacterial extracts immunostimulation with bacterial extracts active in preventing urinary infections recurring

Antonio Jiménez-Pacheco

Servicio de Urología. Hospital Santa Ana. Granada. España

Sr. Editor

Las infecciones del tracto urinario inferior (ITUs) es un problema sanitario en las mujeres de todas las edades, dado el gasto sanitario que genera, así como el impacto negativo en la calidad de vida que genera. Entre el 24% y 50% de los episodios iniciales tiende a recurrir.

Las estrategias para la prevención de las infecciones del tracto urinario inferior no complicadas recurrentes (ITU_R) incluyen una revisión de los factores de riesgo modificables, profilaxis antibiótica y medidas no antimicrobianas.

Dentro de las medidas no antimicrobianas, la idea de emplear inmunoestimulantes bacterianos con el fin de reducir las ITU_R nació hace unos 40 años (1).

En la actualidad, la mayor evidencia sobre extractos bacterianos es respecto a los que se administran por vía oral, aunque la vía parenteral, sublingual, intravaginal e intranasal también se han descrito.

El extracto de *Escherichia coli* OM-89, es un inmunoestimulante oral (comprimido de 6mg) que contiene lisados bacterianos procedentes de 18 cepas de *E. coli*. Los resultados de los ensayos clínicos y metaanálisis publicados hasta la fecha muestran que su uso es beneficioso, respecto a placebo, en la prevención de las ITU_R, además de tener un buen perfil de seguridad (1, 2, 3, 4).

Sin embargo, el periodo de seguimiento de la mayor parte de los estudios es limitado a 6 meses, presentan limitaciones metodológicas en relación al método de aleatorización, el tipo de enmascaramiento, la descripción de los resultados, etc., un importante número de estudios están financiados por el propio fabricante (sesgo de financiación) y todos los trabajos sobre el extracto de *Escherichia coli* OM-89 concluyen a favor del producto (sesgo de publicación).

Otros aspectos a considerar, es la elevada heterogeneidad de los grupos (1,2), así como la ausencia de ensayos que comparen la eficacia del extracto de *Escherichia coli* OM-89 con la profilaxis antibiótica, cuya eficacia, según los estudios reportados, parece ser superior a los regímenes de inmunización actualmente disponibles.

Otra modalidad son las vacunas para la mucosa vaginal (supositorio que contiene 10 cepas de gérmenes uropatógenos, 6 cepas de *E coli*, y 1 de *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii* inactivadas por calor). Los ensayos en fase II demuestran que el tiempo hasta la reinfección de las mujeres que recibieron inmunización de refuerzo (3 dosis de vacunas, más otras 3 dosis de refuerzo), fue significativamente más largo, pero no en el grupo de la inmunización primaria (3 dosis de vacunas sólo) o placebo. A su vez, la inmunización de refuerzo reduce el número de ITU_R (5).

Los estudios que comparan el impacto clínico del tratamiento profiláctico con inmunoestimulación sublingual (contiene cepas de *E coli*, *K pneumoniae*, *P vulgaris*, *E faecalis*) en la prevención de las ITU_R frente al uso de antibióticos (Nitrofurantoina y Trimetropin-Sulfametoxazol), llegan a la conclusión que es una estrategia efectiva para reducir la frecuencia, duración, severidad y coste de las ITU_R.

Existen estudios que han ensayado en modelo animal la inmunización vía intranasal frente a cepas de *E. Coli* y *Proteus mirabilis* con resultados prometedores.

Para productos parenterales, grandes estudios en fase III siguen aún desaparecidos.

A pesar de que la mayoría de los estudios demuestran que el extracto de *Escherichia coli* OM-89 es una estrategia efectiva en la profilaxis de las ITU_R, y que los resultados de los estudios respecto a la vía sublingual, intravaginal e intranasal son prometedores,

Antonio Jiménez-Pacheco

Servicio de Urología.

Avenida Enrique Martín Cuevas s/n. Motril. CP: 18600

Tfno: 958023000

E-mail: anjipa29@hotmail.com

ensayos futuros son necesarios, usando resultados y definiciones uniformes e incluyendo la profilaxis antimicrobiana, que junto con la modificación de los hábitos higiénico-dietéticos constituye en la actualidad la mayor evidencia sobre la prevención de las ITU_R.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Naber KG, Cho YH, Matsumoto T, Schaeffer AJ. Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*, 2009; 33: 111-9.
2. Beerepoot MA, et al. Nonantibiotic prophylaxis for recurrent urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Urol*, 2013. 190: 1981-9.
3. Bauer HW, et al. Prevention of recurrent urinary tract infections with immuno-active E. coli fractions: a meta-analysis of five placebo-controlled double-blind studies. *Int J Antimicrob Agents*, 2002. 19: 451-6.
4. Tato Neto KA, Nogueira Castilho, Reis LO. Vacuna oral (OM-89) en la profilaxis de infección urinaria recurrente: una revisión sistemática realista con metaanálisis. *Actas Urol Esp* 2016; 40:203-8.
5. Uehling DT, Hopkins WJ, Elkahwaji JE, Schmidt DM, Levenson GE. Phase 2 clinical trial of a vaginal mucosal vaccine for urinary tract infections. *J Urol*. 2003; 170: 867-9.

Traumatismo acústico e hipoacusia súbita

Acoustic trauma and sudden deafness

María de Alharilla Montilla Ibáñez¹, Nicolás Fernández Fernández¹, Javier Gómez Hervás²

¹Hospital La Inmaculada, Huércal-Overa

²Hospital Rafael Méndez, Lorca

Sr Editor,

Se decide realizar una revisión breve acerca del traumatismo acústico y la sordera súbita tras comprobar con la práctica clínica diaria que son dos patologías muy frecuentes tanto en la consulta habitual como en la consulta de urgencias. Son dos entidades que generan gran incapacidad al individuo que las padece tanto a corto como a largo plazo.

No siempre en los servicios de urgencias, sobre todo se tienen los medios ni el tiempo necesario para poder tratar a este tipo de pacientes, por eso es fundamental tener los conceptos básicos claros para poder aportar el máximo beneficio al paciente hasta que sea tratado por el especialista.

Por lo tanto, el objetivo fundamental de ésta revisión es afianzar conceptos acerca de los distintos tipos de traumatismos acústicos y la sordera súbita para poder tratar a los pacientes que los padecen con la mayor evidencia científica.

TRAUMATISMO ACÚSTICO

El traumatismo acústico se puede subdividir en cuatro entidades bien diferenciadas:

- Barotraumatismos
- Blast auricular
- Traumatismo sonoro agudo
- Traumatismo sonoro crónico

BAROTRAUMATISMOS

Concepto:

Alteraciones que pueden aparecer en el oído medio por la acción nociva de los desequilibrios en las presiones a ambos lados de la membrana timpánica.

Estas situaciones se pueden dar por ejemplo cuando se realiza buceo o cuando se viaja en avión.

- **Durante el ascenso:**

-la presión en la caja será superior a la ambiental.

-la equiparación de presiones se consigue de forma pasiva con la salida del aire a través de la trompa de Eustaquio.

- **Durante el descenso:**

-la presión en la caja será inferior a la ambiental.

-la equiparación de presiones no es pasiva dado que la presión ambiental colapsa la luz de la trompa de Eustaquio y son necesarios los movimientos de deglución para la apertura de la luz tubárica.

Cuando la dinámica funcional de la trompa de Eustaquio se altera por cambios de presión ambiental muy bruscos o muy rápidos, se supera la capacidad de compensación, y se entra en el campo del barotraumatismo.

Efecto de hiper o hipopresión sobre el oído:

- Lesiones en mucosa de la caja
- Vasodilatación
- Trasudado inflamatorio y/o hemorrágico
- Perforaciones timpánicas
- Desarticulación de la cadena osicular
- Ruptura de la membrana de la ventana redonda.

Síntomas:

- Otalgia progresivamente creciente
- Hipoacusia
- Acúfenos
- Sensación de taponamiento
- Autofonía

- Cuadro vertiginoso periférico

Exploración:

- Otoscopia:
 - Hundimiento e hiperemia timpánica
 - Nivel hidroaéreo en oído medio
 - Infiltrado vascular timpánico
 - Desgarro timpánico
 - Acumetría:
- Hipoacusia de transmisión moderada

Pronóstico:

- La evolución espontánea en la mayoría de los casos es hacia la curación.
- La reiteración de los episodios y la prolongación del tiempo de evolución pueden conducir a un estatus de mal función tubárica.

Profilaxis:

- Masticación repetida
- Maniobras de Valsalva

En caso de encontrarse inmersos en un cuadro viriásico de vías altas:

- Antihistamínicos, AINES, corticoides vía oral a dosis bajas
- Oximetazolina vía nasal
- Maniobras de Politzer

-En caso de buzos suspender la actividad hasta la completa resolución del cuadro.

Tratamiento:

- Según el grado de afectación:
 - Corticoide nasal a dosis doble
 - Vasoconstrictor tópico nasal un día antes, durante el proceso y tres días después.
 - Paracentesis o DTT una vez establecido el cuadro cuando no responde a tratamiento médico.
 - Antibióticos si riesgo de infección
 - Miringoplastia en caso de fracaso de los tratamientos anteriores.

BLAST AURICULAR (onda de choque)

Concepto:

- Lesión producida en oído medio e interno por efecto de una onda expansiva y una gran intensidad sonora.
- La onda de presión se propaga a mayor velocidad que la onda sonora.

Síntomas:

- Otagia intensa

- Hipoacusia
- Acúfenos
- Otorragia si hay ruptura timpánica
- Vértigo periférico por agitación de la platina en el laberinto

Exploración:

- Otoscopia:
 - Si hay coágulo en CAE que no debe retirarse, ya que ayuda con su fibrina a la reparación de la perforación
 - Si no hay coágulo, podrá verse una perforación timpánica en la *pars tensa*
- Exploración funcional:
 - Hipoacusia de percepción, máximo en 4000 Hz con reclutamiento positivo.
 - Hipoacusia mixta por la perforación

Tratamiento:

- No mojar oído como profilaxis
- Antiinflamatorios o analgésicos
- Si las lesiones timpánicas no se han resuelto de forma espontánea, pueden ser tributarias de timpanoplastia.

TRAUMATISMO SONORO AGUDO

Concepto:(1)

- Hipoacusia que aparece tras la exposición a un ruido de gran intensidad y por lo general de corta duración.
- El agente causante es una violenta vibración que producirá lesiones de máxima intensidad y precocidad a 4000 Hz.

Hipótesis:

- El traumatismo es de mayor intensidad en 4000 Hz porque...
 - Esta zona de la cóclea es la peor vascularizada.
 - Ante sonidos traumatizantes con componentes agudos y graves, la membrana basilar generaría ondas antagónicas que se encontrarían en ese punto, provocando la lesión por factores mecánicos.
 - Suma de factores relacionados con la morfología de la membrana basilar y la capacidad resonante del CAE (Conducto auditivo externo).

Síntomas:

- Acúfenos
- Hipoacusia
- Hiperacusia dolorosa

Exploración:

Otoscopia: sin alteraciones

Exploración funcional: Hipoacusia de percepción con máxima caída en 4000 Hz y reclutamiento positivo.

Pronóstico:

- Dependerá de la magnitud de la pérdida auditiva y de la edad del paciente.
- Con el incremento de las dos anteriores disminuirá la capacidad de recuperación.
- La parte esencial de la recuperación se produce en los 5 primeros días.
- Pasado éste tiempo en el 50% de los pacientes persiste el acúfeno.

Tratamiento:

- Profiláctico si es posible.
- En casos de traumatismo reciente:
 - Vasodilatadores
 - Corticoides a dosis altas (prednisona 1mg/Kg de peso) durante 5 días
 - Antioxidantes
 - Oxígeno hiperbárico
 - Magnesio

La recuperación está mas en consonancia con los factores pronósticos que con las medidas terapéuticas.

TRAUMATISMO SONORO CRÓNICO

Concepto:

- Hipoacusia a consecuencia de lesiones del oído interno, provocadas por estímulos sonoros de baja intensidad y de larga duración.
- Suele ser a consecuencia de una exposición a ruido en el entorno laboral.

Factores predisponentes:

- Intensidad: mínimo de 80Db.
- Frecuencia: tonos agudos mas traumatizantes
- Tiempo de exposición
- Tipo de ruido: los continuos son mas perjudiciales que los intermitentes
- Ambiente laboral: local cerrado y con reverberación es más nocivo. Maquinaria mal aislada del suelo transmite vibraciones por vía ósea que se suman a las de la vía aérea.
- Factores individuales: edad, susceptibilidad...

Etiopatogenia:

- Cuando un estímulo sonoro traumatizante sobrepasa la capacidad de adaptación del oído, se entra en una etapa de fatiga auditiva.
- Comienza con síntomas en principio reversibles si deja de actuar el estímulo.

- Si el estímulo continúa se producen cambios metabólicos en las células ciliadas del órgano de Corti.
- Una serie de cambios metabólicos, irán condicionando alteraciones morfológicas.
- Se lesionan primero las cel. Ciliadas externas y luego las internas hasta producir el colapso y desaparición de los somas celulares.
- En éste momento la lesión es irreversible.

Síntomas:

- Acúfenos
- Ligeras hipoacusias que en periodos iniciales de la enfermedad solo ocurre durante la jornada laboral y desaparece con los periodos de descanso.
- Hiperacusia dolorosa con la evolución.
- Regresión fonémica.

Exploración:

- Otoscopia: normal
- Audiometría: hipoacusia de percepción con caída en la frecuencia 4000Hz.

Tratamiento:

- No existe tratamiento que puede hacer retroceder el cuadro.
- El único tratamiento efectivo es el preventivo:
 - Tapones, cascos...
 - Mejorar el aislamiento de la maquinaria
 - Reducción de la jornada laboral.
 - Revisiones audiométricas periódicas.

HIPOACUSIA SÚBITA

Concepto:(9)

- Pérdida o disminución importante (uni o bilateral) de la función coclear.
- Siempre se presenta de modo súbito (máximo 72 horas).
- Se produce una pérdida perceptiva pura de al menos 30 Db en al menos 3 frecuencias contiguas.

Etiopatogenia:

- No tiene una etiología conocida por ello se han elaborado varias hipótesis.
- HIPÓTESIS VASCULAR:
 - La hipoacusia se debería a fenómenos de hipoxia o isquemia laberínticos secundarios a alteraciones permanentes o espasmos de la estría vascular.
 - Estas alteraciones podrían deberse a múltiples factores: arterioesclerosis, hiperviscosidad sanguínea, reacción autoinmune, tabaco...

- **HIPÓTESIS VÍRICA:**

- La acción de determinados virus produciría una lesión neuronal de las células ciliadas, las fibras cocleares y la estría vascular.

- Los virus implicados con mas frecuencia son: adenovirus, influenza, arotraum, arotra, sarampión, herpes, VIH, parotiditis...

- Desarrollarían enfermedades subclínicas.

- **HIPÓTESIS AUTOINMUNE, DE ROTURA DE MEMBRANAS...**

Síntomas:

- Hipoacusia, que puede ser variable a lo largo de las primeras horas, típicamente al despertar y unilateral.
- Acúfeno homolateral a la hipoacusia.
- Sensación de plenitud ótica.
- Vértigos o inestabilidad.

Exploración:

- Otoscopia: normal
- Audiometría: hipoacusia perceptiva.
- Exploración neurológica: normal
- RM: para excluir procesos expansivos.
- Analítica (coagulación, bioquímica...)

Diagnóstico diferencial:

Neurinoma del acústico

- Alteraciones en el sistema vascular vertebrobasilar y arteria laberíntica (angiografía)
- Pruebas serológicas para la detección de enfermedades pasadas o subclínicas.
- Laberintoplejía (hipoacusia + acúfeno + síndrome vestibular periférico)
- Fístula perilinfática tras barotrauma.

Pronóstico:

- Variable y poco predecible
- En general los pacientes con sorderas muy profundas tienen peor pronóstico.
- Cuanto antes se produzca la recuperación espontánea y más rápida sea, mejores perspectivas de recuperación completa.
- Con síntomas asociados tienen peor pronóstico (acúfenos, vértigos...).

Tratamiento:(10)

- No hay ninguna pauta establecida
- Gas carbómero (6L/min, 5 sesiones/día)
- Corticoides dosis altas 5 días
- Aciclovir o famciclovir 500mg/8h 10 días.
- Oxigenoterapia hiperbárica.

- Inyección transtimpánica de corticoides (para pacientes que no responden a otros tratamientos o con mal pronóstico).(11)

Conclusión:

- Estadísticamente, en grupos aleatorios la recuperación funcional es la misma en los pacientes tratados y no tratados.
- No hay una diferencia significativa en el grupo de pacientes tratados prontamente y aquellos que se demoró el tratamiento.

CONCLUSIONES

Una vez tratado el tema en profundidad podemos obtener como conclusión general que la sintomatología que se produce tanto en el traumatismo acústico como en la sordera súbita es muy parecida, por lo que es fundamental una buena anamnesis que nos oriente sobre lo sucedido.

La exploración especializada puede demorarse algunos días, pero el tratamiento al paciente no debe de demorarse a pesar de que no existe evidencia científica clara de ello, sobre todo, el paciente debe de sentirse tratado tras la incapacidad que padece.

Finalmente, los signos pronósticos serán los que determinen la evolución del paciente, más que el tratamiento aplicado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Poncet JL, Kossowski M, Tran Ba Huy P. Traumatismos sonoros agudos. Les Urgentes en ORL. Paris: Société Française d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie de la Face et du Cou; 2002. 409-29.
2. Sliwiska-Kowalska M, Kotylo P. Evaluation of individuals with known or suspected noise damage to hearing. *Audiol Med* 2007; 5:54-65.
3. Talaska AE, Schacht J. Mechanisms of noise damage to the cochlea. *Audiol Med* 2007; 5:3-9.
4. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 2006; 27:1-9.
5. Fakhry N, Rostain JC, Cazals Y. Hyperbaric oxygenation with corticoid in experimental acoustic trauma. *Hear Res* 2007; 230:88-92.
6. Rachiotis G, Alexopoulos C, Drivas S. Occupational exposure to noise, and hearing function among electro production workers. *Auris Nasus Larynx* 2006; 33:381-5.
7. Nash SD, Cruickshanks KJ, Klein R, et al. The prevalence of hearing impairment and associated risk factors: the Beaver Dam Offspring Study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 137:432.
8. Stevens G, Flaxman S, Brunskill E, et al. Global and regional hearing impairment prevalence: an analysis of 42 studies in 29 countries. *Eur J Public Health* 2013; 23:146.
9. Stachler RJ, Chandrasekhar SS, Archer SM, et al. Clinical practice guideline: sudden hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 146:S1.
10. Wei BP, Stathopoulos D, O'Leary S. Steroids for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 7:CD003998.
11. Gundogan O, Pinar E, Imre A, et al. Therapeutic efficacy of the combination of intratympanic methylprednisolone and oral steroid for idiopathic sudden deafness. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 149:753.

Amiloidosis cardiaca y macroglobulinemia de Waldenström

Cardiac amyloidosis and Waldenström macroglobulinemia

Isabel Sánchez-Berná¹, Carlos Santiago-Díaz¹, Antonio Romero-Aguilar²

¹ Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada).

² Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada).

Estimado Editor,

Se presenta el caso de una mujer de 51 años diagnosticada dos años antes de macroglobulinemia de Waldenström (MW) por presentar astenia progresiva de dos años de evolución asociada a pérdida de 10 Kg de peso, cefalea, mareo, visión borrosa, anemia moderada, VSG en la primera hora de 95 mm, hepatoesplenomegalia, adenopatías laterocervicales y retroperitoneales, polineuropatía sensitivo-motora distal, e IgM de 4396 mg/dL, asociado a un inmunofenotipo en médula ósea compatible. Tras ser valorada por Hematología y ante la exacerbación de la clínica en los meses siguientes al diagnóstico, se inició tratamiento con bendamustina-rituximab con buena respuesta clínica, estando en seguimiento estrecho por su parte.

En los últimos seis meses presenta palpitaciones y mareo en el contexto de hipotensiones arteriales, así como en la última semana disnea progresiva con ortopnea y edematización periférica, agravadas en las horas previas a su consulta por taquicardia supraventricular a 195 lpm, motivo por el que se decide ingreso hospitalario para tratamiento y estudio. Se realiza ecocardiografía transtorácica con datos sugerentes de amiloidosis cardiaca, resultado confirmado posteriormente por angio-RM cardiaca (Figura 1) y biopsia de grasa subcutánea, identificando el subtipo de amiloidosis AL. Tras valoración multidisciplinar, se descartó que la paciente fuese candidata a trasplante cardiaco ni a quimioterapia paliativa, instaurándose exclusivamente el tratamiento propio de la disfunción cardiaca. Tras una tórpida evolución, la paciente falleció 9 meses tras el diagnóstico.

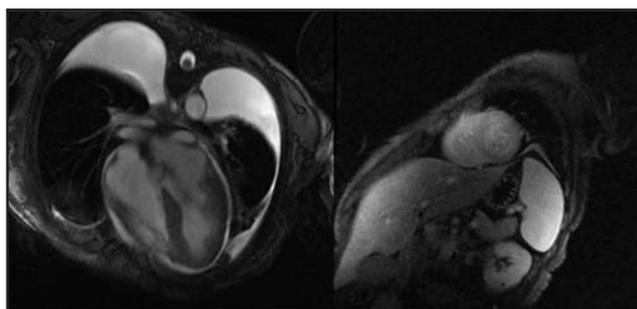


Figura 1

El diagnóstico final fue de Amiloidosis cardiaca como complicación de una macroglobulinemia de Waldenström.

La MW es una paraproteinemia que consiste en la proliferación monoclonal de células linfoides B secretoras de IgM, que suele manifestarse con síntomas derivados de la infiltración linfoplasmocitaria, siendo también muy típica la aparición de un síndrome de hiperviscosidad asociado a la estructura pentamérica de la IgM (diátesis hemorrágica, trastornos cardiovasculares, neurológicos y visuales). Suele afectar a varones (70%) de edad avanzada, presentando una incidencia de 0.5 casos nuevos por cada 100000 habitantes y año. La MW es habitualmente una enfermedad muy indolente, con una mediana de supervivencia superior a los 10 años desde el diagnóstico, que sólo precisa tratamiento en pacientes sintomáticos o con datos de progresión de la enfermedad(1,2).

Las discrasias de células plasmáticas, fundamentalmente el mieloma múltiple (10-15%) y con menor frecuencia las gammopatías monoclonales IgM (2.2%), pueden asociar como complicación durante su evolución una amiloidosis, siendo el tipo más frecuente la amiloidosis AL, aunque hay algunos casos también de AA(3-5). La amiloidosis primaria o AL es una enfermedad poco común (5.1 a 12.8 casos nuevos por millón de habitantes y año) que consiste en el depósito tisular de fibrillas proteicas insolubles compuestas por fragmentos de una cadena ligera (κ o λ) monoclonal en disposición beta plegada(6), y que se tiñe con colorante rojo Congo dando lugar a una patognomónica birrefringencia verde manzana al observarse bajo luz polarizada(4,5). Las manifestaciones clínicas dependen de dónde se produzca el depósito de amiloide, siendo los órganos más frecuentemente afectados riñón (53-74%), corazón (35-60%), ganglios linfáticos (21%), hígado (14-27%), sistema nervioso periférico (3-22%) y sistema nervioso autónomo (7-18%), presentando en el momento del diagnóstico un compromiso de más de un órgano el 54-69% de los pacientes(4-6).

La amiloidosis cardiaca aparece hasta en el 60% de los pacientes con amiloidosis AL y sólo en 5% de los pacientes con amiloidosis AA, empeorando de forma marcada el pronóstico principalmente el primer grupo (mediana de supervivencia de 11-12 meses desde el diagnóstico)(3-5,7). Los síntomas con los que se manifiesta con más frecuencia la amiloidosis cardiaca son: insuficiencia cardiaca, presíncope o síncope, alteraciones en el siste-

ma de conducción o afectación pericárdica(5-8). En cualquier caso el diagnóstico de amiloidosis cardiaca se basa en la realización de una ecocardiografía bidimensional, pudiendo completarse el estudio con una resonancia magnética cardiaca con gadolinio, no siendo habitualmente necesario para el diagnóstico la realización de una biopsia cardiaca(5). El tratamiento de la amiloidosis cardiaca de elección es el trasplante cardiaco seguido de quimioterapia y trasplante autólogo de células hematopoyéticas, aunque la mayor parte de los pacientes no son candidatos a trasplante bien por la afectación multiorgánica de la enfermedad o bien por su edad. Ante esto, en función de la situación clínica del paciente, se debe valorar el inicio de quimioterapia con fines paliativos, y optimizar el tratamiento de la insuficiencia cardiaca para mejorar en la medida de lo posible el grado funcional del paciente(5-8).

Como vemos la afectación cardiaca en la amiloidosis AL conlleva un marcado empeoramiento pronóstico, lo que justifica la necesidad de realizar un diagnóstico precoz para plantear una rápida terapéutica intensiva y global.

REFERENCIAS:

1. Rajkumar SV. Epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations and diagnosis of Waldenström macroglobulinemia. [Monografía en Internet]. Walthman (MA): UpToDate 2014 Diciembre [acceso 15 de enero de 2015]. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>
2. Bladé Creixentí J, San Miguel JF. Gammopatías monoclonales. En: Farreras Valentí P, Rozman C, Editores. Medicina Interna. 17 ed. Barcelona: Elsevier; 2012. P.1626.
3. Gertz MA, Kyle RA, Noel P. Primary systemic amyloidosis: a rare complication of immunoglobulin M monoclonal gammopathies and Waldenström's macroglobulinemia. J Clin Oncol 1993;11(5):914-20.
4. Rajkumar SV. Clinical presentation, laboratory manifestations, and diagnosis of immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis (primary amyloidosis). [Monografía en Internet]. Walthman (MA): UpToDate 2014 Diciembre [acceso 15 de enero de 2015]. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>
5. Dubrey SW, Hawkins PN, Falk RH. Amyloid diseases of the heart: assessment, diagnosis, and referral. Heart 2011; 97(1):75-84.
6. Wechalekar AD, Lachmann HJ, Goodman HJ, Bradwell A, Hawkins PN, Gillmore JD. AL amyloidosis associated with IgM paraproteinemia: clinical profile and treatment outcome. Blood 2008;112(10):4009-16.
7. Dubrey SW, Cha K, Anderson J, Chamarthi B, Reisinger J, Skinner M, et al. The clinical features of immunoglobulin light-chain (AL) amyloidosis with heart involvement. QJM 1998;91(2):141-57.
8. Falk RH. Clinical manifestations and diagnosis of amyloid cardiomyopathy. [Monografía en Internet]. Walthman (MA): UpToDate 2014 Diciembre [acceso 15 de enero de 2015]. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>

Neumomediastino espontáneo en edad pediátrica

Spontaneous Pneumomediastinum in pediatric patient

María Sierra Girón Prieto¹, Irene Ibáñez Godoy²

¹Médico de familia C.S Pinos Puente

²Pediatra C.S Almanjáyar

Sr. Editor:

El neumomediastino espontáneo (NE) se define como la presencia de aire o gas en el mediastino; primario (espontáneo y sin enfermedad subyacente) o secundario (traumático o en relación a enfermedad de base). Es una enfermedad de escasa incidencia (quizás infraestimada) y en general benigna en la edad infantil pediátrica, causado por aumento del gradiente de presión alveolo-intersticial o la ruptura alveolar y la disecación de aire en el mediastino y el hilio (1,2)

Su presentación clínica es variable sin que existan síntomas ni signos patognomónicos para su diagnóstico. Es más frecuente en niños asmáticos, con fibrosis quística o pacientes con infecciones respiratorias aunque puede ocurrir en pacientes que realicen maniobras de Valsalva bruscas incluyendo tos, esfuerzos intensos, vómitos fuertes o sibilancias por primera vez (estas últimas con pocos casos descritos), estados de ansiedad con hiperventilación, traumatismos, consumo de drogas, aspiración de cuerpo extraño, ruptura espontánea de esófago, perforación gástrica, reanimación cardiopulmonar, maniobra de Heimlich o extracción dentaria (3,4,5,6)

Presentamos el caso de un paciente varón de 11 años que consultó en el servicio de Urgencias Extrahospitalarias (UE) por disnea y estridor laríngeo de inicio brusco sin antecedentes personales de interés. La auscultación respiratoria (AR) era normal, no presentaba otros síntomas acompañantes. La saturación de oxígeno era del 90%. Se pautó budesonida inhalada junto prednisolona oral 0.8mg/kg dosis única y se trasladó al hospital de referencia donde objetivaron mejoría del niño tras nuevo aerosol de budesonida. Al alta se encontraba con buen estado general, sin disnea, AR normal y saturación de O₂ 99%. Quince horas más tarde comenzó de nuevo con sensación disnea y dolor torácico que se irradiaba a hemitórax izquierdo y acudió de nuevo a UE. Tras una anamnesis detallada, el paciente refería ejercicio intenso la tarde anterior. En la exploración presentaba buen estado general con sensación disnea y leve taquipnea. En la AR se apreciaba un buen murmullo vesicular sin ruidos patológicos y una auscultación cardíaca rítmica sin soplos. La exploración de la orofaringe era normal y tenía una saturación del 99%. Destacaba la realización de una inspiración profunda cada 6-7 ciclos respiratorios normales. En el electrocardiograma se observaba un ritmo sinusal a 100 latidos

por minuto con bloqueo de rama derecha sin alteraciones de la repolarización compatible con la normalidad según la edad del paciente.

Se decidió nuevo traslado al hospital para realización de pruebas complementarias y valoración con juicio clínico de neumomediastino. En la Radiografía (Rx) de Tórax se apreciaba silueta cardíaca rodeada de pequeño halo aéreo también existente en borde superior de ambos hemidiafragmas compatible con neumomediastino.

Como diagnósticos diferenciales se consideraron: laringitis, crup laríngeo, cuerpo extraño vías aéreas superiores, crisis asmática y neumotórax.

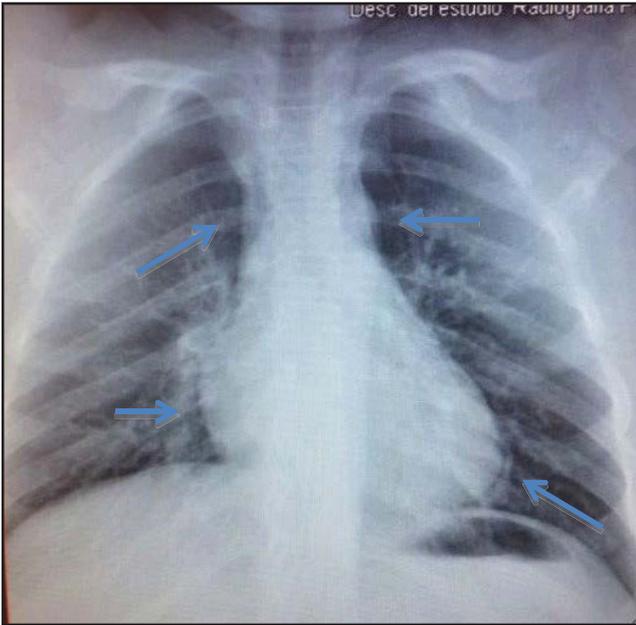
El NE es una patología poco frecuente en pediatría. Clínicamente el síntoma más frecuente es el dolor torácico. Es necesaria una anamnesis y exploración física detalladas ya que en ocasiones puede presentarse como disnea, cervicalgia, hinchazón en el cuello, odinofagia o disfonía, por tanto, una vez que se descartan otras causas y sin enfermedad de base, el dolor torácico y la disnea deben considerarse como posibilidad de NE en el diagnóstico diferencial. (1)

La Rx de tórax confirma el diagnóstico si se realizan la proyección posteroanterior y lateral ya que hasta la mitad de los NE pueden pasar desapercibidos si no se realiza la proyección lateral (1,2). La existencia del signo de Hamman o el enfisema subcutáneo apoya el diagnóstico. En adultos se describe una arritmia cíclica respiratoria (que sí presentaba nuestro paciente). La presencia de recurrencias es escasa.

La evolución del NE es por lo general benigna que requiere de tratamiento de soporte y conservador y en muchos de los casos puede tratarse de forma ambulatoria; la necesidad de ingreso vendrá determinada en gran parte por la causa subyacente en caso de que estuviese presente. Su resolución suele ser espontánea y autolimitada y no suele producir repercusiones respiratorias importantes (1)

Aunque es una entidad poco frecuente en pediatría debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial ante cualquier niño con dolor torácico y disnea de instauración aguda.

María Sierra Girón Prieto
E-mail: mariasierragiron@gmail.com



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. (1) Moure González JD, Muñiz Fontán M, Martínón-Torres F, Trabazo Rodríguez S, Martínón Sánchez JM. Neumomediastino espontáneo primario. *Pneuma* 2010;6:29-31
2. (2) Macías Robles MD, García Peliz M, González Franco A, Maniega Cañibano M, García Bear I, García Fernández MT. Neumomediastino espontáneo en Urgencias. *Emergencias*. 1999;11:438-441
3. (3) Godoy L, Morilla L, Iramaín V, Pavlicich V. Presentación en la Emergencia de un niño con neumomediastino espontáneo. *Pediatr.(Asunción)*.2011;38:1
4. (4) Cáceres M, Ali SZ, Braud R. Spontaneous pneumomediastinum: a comparative study and review of the literature. *Ann Thorac Surg*. 2008;86:962
5. (5) Bullaro FM, Bartoletti SC. Spontaneous pneumomediastinum in children: a literature review. *Pediatr Emerg Care*. 2007;23:28-30
6. (6) Campillo-Soto A, Coll-Salinas A, Soria-Aledo V, Blanco-Barrio A, Flores-Pastor B, Candel-Arenas M, et al. Neumomediastino espontáneo: estudio descriptivo de nuestra experiencia basada en 36 casos. *Arch Bronconeumol* 2005;41:528-31

Cáncer de vejiga

Miguel Ángel Arrabal Polo; María del Carmen Cano García
UGC Urología. Complejo Hospitalario Universitario de Granada.

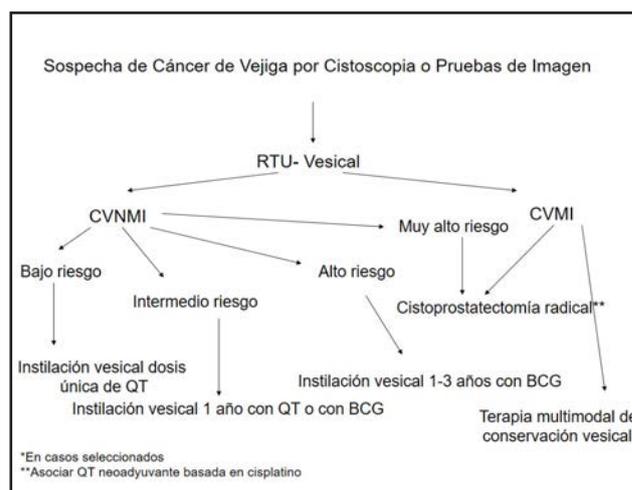
El cáncer de vejiga representa el 5% de todos los tumores malignos en Estados Unidos, siendo su incidencia progresivamente más elevada en los últimos años como consecuencia del aumento de la exposición a factores de riesgo y el aumento de la esperanza de vida. Suele presentarse con mayor frecuencia en personas de edad avanzada, con una edad promedio al diagnóstico de 73 años. La proporción de padecer este tipo de cáncer es de 3-4:1 del hombre con respecto a la mujer (1-3).

El principal factor de riesgo para padecer cáncer de vejiga es la exposición al tabaco, suponiendo al menos un riesgo 3 veces mayor de presentar esta patología. Otros factores de riesgo modificables relacionados con la aparición de esta neoplasia son la exposición a aminas aromáticas en lugares de trabajo, la presencia de arsénico en agua potable, el consumo de algunos tipos de medicamentos o productos de herbolario, la existencia de infecciones (como la esquistosomiasis), quimioterapia previa con ciclofosfamida. Entre los factores de riesgo no modificables se encuentran la edad, el sexo y la raza, siendo más frecuente en el hombre blanco y enfermedades genéticas hereditarias (1-3).

La manifestación clínica más habitual en el cáncer de vejiga es la aparición de hematuria macroscópica, aunque ante una hematuria microscópica repetida en un paciente con factores de riesgo, hay que tener en cuenta esta posibilidad y sospecharla. En caso de hematuria macroscópica monosintomática se recomienda la realización de uretrocistoscopia para estudio pormenorizado de la uretra y cavidad vesical. Ante la presencia de hematuria microscópica, además de descartar otras posibles causas, es recomendable al menos la realización de estudio completo del aparato urinario mediante ecografía y citología urinaria. Cuando se llega al diagnóstico clínico de neoplasia vesical (por cistoscopia u otra prueba de imagen) se recomienda en primer lugar la realización de una resección transuretral de vejiga (RTU-V) que sirve de diagnóstico histológico y como tratamiento en los cánceres de vejiga no músculo-infiltrante. Desde el punto de vista clínico es muy útil la distinción entre cáncer vesical no músculo-infiltrante (CVNMI) y cáncer vesical músculo-infiltrante (CVMI) puesto que el tratamiento difiere considerablemente (1).

En caso de CVNMI cabe distinguir fundamentalmente tres grupos de riesgo (bajo, intermedio y alto). En el grupo de bajo riesgo el tratamiento consiste además de la RTU-V en la instilación precoz postoperatoria y única de quimioterapia intravesical. En el grupo de riesgo intermedio, se recomienda además de la RTU-V la instilación de quimioterapia intravesical como máximo 1 año o bien instilación con BCG hasta 1 año igualmente. En el grupo de alto riesgo se recomienda la RTU-V asociada a instilaciones de BCG entre 1-3 años. Existe un subgrupo de pacientes

de muy alto riesgo (en los que previamente ha fallado la BCG o en los que la histología es muy desfavorable) en los que puede indicarse Cistoprostatectomía radical como tratamiento más apropiado. Aunque no existe un esquema de seguimiento establecido en este tipo de pacientes con CVNMI, se recomienda cistoscopia y citología a los 3 meses de la RTU-V y posteriormente espaciarlas cada 6-12 meses (en función del riesgo) hasta 5-10 años (1, 2).



Algoritmo de tratamiento.

En caso de CVMI se recomienda la realización de Cistoprostatectomía radical como tratamiento estándar con derivación continente siempre que sea posible (a excepción de neoplasia que afecte al trigono o uretra prostática fundamentalmente). La quimioterapia neoadyuvante basada en cisplatino ha demostrado aumentar la supervivencia en 5%-8% a los 5 años en este tipo de pacientes por lo que está recomendada, debiéndose suspender en caso de intolerancia o progresión de la enfermedad para realizar de forma inmediata la Cistoprostatectomía radical. No se debe retrasar más de 3 meses la cirugía para evitar aumentar el riesgo de progresión y muerte cáncer-específica. La quimioterapia adyuvante no está indicada de forma sistemática tras la Cistoprostatectomía radical, mientras que la Radioterapia externa sólo se contempla cuando el paciente no es candidato a cirugía o cuando se pretende un tratamiento multimodal de conservación vesical. Habitualmente el tratamiento multimodal para terapia

de conservación vesical (no realización de Cistoprostatectomía radical) consiste en la combinación de RTU-V, quimioterapia y radioterapia externa. En los casos en los que existe enfermedad metastásica al diagnóstico, la realización de cirugía de exéresis no es curativa, quedando reservada fundamentalmente para aquellos pacientes sintomáticos con el objetivo de mejorar su calidad de vida, ya que el tratamiento sistémico con quimioterapia basada en cisplatino es lo indicado en muchos de los casos (1, 2).

BIBLIOGRAFÍA

1. EAU pocket Guideline 2016. <http://uroweb.org/wp-content/uploads/Pocket-Guidelines-2016-complete-file.pdf>
2. National Cancer Institute. Physician Data Query (PDQ). Bladder Cancer Treatment. 2015. Accessed at www.cancer.gov/types/bladder/hp/bladder-treatment-pdq on January 14, 2016.
3. Moyer VA; US Preventive Services Task Force. Screening for bladder cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2011;155:246-251.

Publicación centenaria
médico científica de ámbito
nacional e internacional

Artículos de **investigación**
básica o clínica, **casos clínicos**,
docencia y opinión

Edición de suplementos
específicos para congresos
y reuniones

El Comité Editorial invita a todos los médicos colegiados en Andalucía a que publiquen los resultados de su experiencia clínica e investigación en Actualidad Médica, revista cuatrimestral fundada en Andalucía hace 103 años, actualmente incorporada al modelo de Open Journals y con sistema de revisión por pares, que cuenta con una amplia difusión en el mundo académico y de la salud de España y América

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES DE ACTUALIDAD MÉDICA

NORMAS GENERALES

ACTUALIDAD MÉDICA es una revista centenaria (www.actualidadmedica.es) de ámbito científico nacional e internacional que publica artículos de investigación clínica o básica, artículos de docencia y de opinión, cartas al editor, editoriales y comentarios en relación con las enfermedades y patologías que afectan al ser humano fundamentalmente en el ámbito de la medicina interna y otras especialidades médico-quirúrgicas.

Es la revista oficial de la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental, edita 3 números al año, y acepta manuscritos en español e inglés. Tiene una versión impresa (español) y otra versión on line (español o inglés).

RESPONSABILIDADES Y ASPECTOS ÉTICOS EN LA PUBLICACIÓN

ACTUALIDAD MÉDICA considera que la negligencia en investigación o en publicación es una infracción ética seria y tratará este tipo de situaciones de la manera necesaria para que sean consideradas como negligencia. Es recomendable que los autores revisen el Committee on Publication Ethics (COPE) y el International Committee of Medical Journal Editors para mayor información a este respecto.

La revista ACTUALIDAD MÉDICA no acepta material previamente publicado. El plagio y el envío de documentos a dos revistas por duplicado se consideran actos serios de negligencia. El plagio puede tomar muchas formas, desde tratar de publicar trabajos ajenos como si fueran propios, copiar o parafrasear partes sustanciales de otro trabajo (sin atribución), hasta reclamar resultados de una investigación realizada por otros autores. El plagio, en todas sus formas posibles, constituye un comportamiento editorial no ético y, por tanto, se considera inaceptable. El envío/publicación duplicada ocurre cuando dos o más trabajos comparten la misma hipótesis, datos, puntos de discusión y conclusiones, sin que estos trabajos hayan sido citados mutuamente uno a otro.

INVESTIGACIÓN HUMANA Y ANIMAL

Toda información identificativa no deberá ser publicada en declaraciones escritas, fotografías o genealogías. Asimismo, no se podrán revelar nombres de pacientes, iniciales o números de historia clínica en materiales ilustrativos. Las fotografías de seres humanos deberá ir acompañadas de un consentimiento informado de la persona y que dicha persona revise el manuscrito previo a su publicación, en el caso de que dicho paciente pueda ser identificado por las imágenes o los datos clínicos añadidos en dicho manuscrito. Los rasgos faciales no deben ser reconocibles. El Comité Editorial puede requerir a los autores añadir una copia (PDF o papel) de la aprobación de un Comité de Ética en el caso de trabajos con experimentación animal o ensayos clínicos (pacientes, material de pacientes o datos médicos), incluyendo una traducción oficial y verificada de dicho documento. Se debe especificar en la sección ética que todos los procedimientos del estudio recibieron aprobación ética de los comités de ética relevantes correspondientes a nivel nacional, regional o institucional con responsabilidad en la investigación animal/humana. Se debe añadir igualmente la fecha de aprobación y número de registro. En caso de que no se hubiera recibido la aprobación ética, los autores deberán explicar el motivo, incluyendo una explicación sobre la adherencia del estudio a los criterios propuestos en la Declaración de Helsinki. (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>).

AUTORÍA

Todos los datos incluidos en la presentación de un manuscrito deben ser reales y auténticos. Todos los autores incluidos deben haber contribuido de forma significativa a la elaboración del documento, así como tiene la obligación de facilitar retracciones o correcciones, si fuera necesario, cuando se encuentren errores en el texto.

En el caso de artículos de investigación original y artículos docentes, se recomienda un máximo de 6 autores, aunque se aceptan sugerencias concretas para más de 6 autores. Para otros tipos de manuscritos, 4 autores será considerado un número aceptable. Cada autor deberá especificar cómo desea que se cite su nombre (i.e., solo el primer apellido, los dos apellidos o unir ambos apellidos con guión). En caso de ser necesario, se requerirá que cada autor especifique el tipo y grado de implicación en el documento.

REVISIÓN POR PARES

ACTUALIDAD MÉDICA publica documentos que han sido aceptados después de un proceso de revisión por pares. Los documentos enviados serán revisados por revisores ciegos que no tendrán ningún tipo de conflicto de interés con respecto a la investigación, a los autores y/o a las entidades financiadoras. Los documentos serán tratados por estos revisores de forma confidencial y objetiva. Los revisores podrán indicar algunos trabajos relevantes previamente publicados que no hayan sido citados en el texto. Tras las sugerencias de los revisores y su decisión, los editores de la revista tienen la autoridad para rechazar, aceptar o solicitar la participación de los autores en el proceso de revisión. Tanto los revisores como los editores no tendrán conflicto de interés con respecto a los manuscritos que acepten o rechacen.

LICENCIAS

En el caso de que un autor desee presentar una imagen, tabla o datos previamente publicados, deberá obtener el permiso de la tercera parte para hacerlo. Este permiso deberá estar reflejado por escrito y dirigido a la atención del editor de la revista ACTUALIDAD MÉDICA. En caso de que una institución o patrocinador participe en un estudio, se requiere de forma explícita su permiso para publicar los resultados de dicha investigación. En caso de presentar información sobre un paciente que pueda revelar su identidad, se requiere el consentimiento informado de dicho paciente por escrito.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores de un manuscrito son responsables de reconocer y revelar cualquier conflicto de intereses, o potencial conflicto de intereses, que pueda sesgar su trabajo, o pudiera ser percibido como un sesgo en su trabajo, así como agradecer todo el apoyo financiero y colaboraciones personales. ACTUALIDAD MÉDICA se adhiere a las directrices del International Committee of Medical Journal Editors, que está disponible en <http://www.icmje.org>, incluyendo aquellas de conflicto de intereses y de autoría. Cuando exista conflicto de intereses, deberá ser especificado en la Página de Título. De igual forma, el impreso de Conflicto de Intereses (ver impreso) deberá ser rellenado, firmado

por todos los autores y remitido al editor ACTUALIDAD MÉDICA. Los autores deberán mencionar el tipo de relación e implicación de las Fuentes financiadoras. Si no existe conflicto de intereses, deberá especificarse igualmente. Cualquier posible conflicto de intereses, financiero o de cualquier otro tipo, relacionado con el trabajo enviado, deberá ser indicado de forma clara en el documento o en una carta de presentación que acompañe al envío.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

En el último párrafo de la sección Material y Métodos, los autores deberán comentar que los pacientes incluidos en el estudio dieron su consentimiento a participar después de haber sido informados de forma concienzuda acerca del estudio. El editor de ACTUALIDAD MÉDICA, si lo considera necesario, puede requerir la presentación de este consentimiento informado a los autores.

ENVÍO DE MANUSCRITOS

Los manuscritos deberán ser remitidos por internet a través de la dirección www.actualidadmedica.es en el enlace de Envío de Manuscritos, debiéndose previamente registrar en dicha página y siguiendo las normas e instrucciones que aparecen en la misma. El texto del manuscrito (incluyendo primera página o página de título, resumen, cuerpo del artículo, agradecimientos y referencias) deberán incluirse en un único archivo. Las figuras y tablas deberán adjuntarse en archivos separados, usando un archivo para cada tabla o figura.

NORMAS ESPECÍFICAS PARA CADA TIPO DE ARTÍCULO

ARTÍCULO ORIGINAL DE INVESTIGACIÓN

Se considerarán trabajos de investigación clínica o básica todos aquellos relacionados con la medicina interna y con aquellas especialidades médico-quirúrgicas que representen interés para la comunidad científica. Los tipos de estudios que se estiman oportunos son los estudios de casos controles, estudios de cohortes, series de casos, estudios transversales y ensayos controlados. En el caso de ensayos controlados deberán seguirse las instrucciones y normativas expresadas en CONSORT disponible en <http://www.consort-statement.com>, o en otros similares disponibles en la web.

La extensión máxima del texto será de 3000 palabras que deberán dividirse en las siguientes secciones: Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones. Además deberá incluir un resumen de una extensión máxima de 300 palabras estructurado en Objetivos, Métodos, Resultados, Conclusiones. Se acompañará de 3 a 6 palabras clave, recomendándose para las mismas el uso de términos MeSH (Medical Subject Headings de Index Medicus/Medline disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/mesh-browser.cgi>) y de términos del Índice Médico Español. Para la redacción de los manuscritos y una correcta definición de palabras médicas le recomendamos consulten el Diccionario de Términos Médicos editado por la Real Academia Nacional de Medicina. En total se admitirán hasta 40 referencias bibliográficas siguiendo los criterios Vancouver (ver más adelante). El número máximo de tablas y figuras permitidas será de 6. Una figura podrá estar a su vez formada por una composición de varias.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

ARTÍCULO ORIGINAL DE DOCENCIA

Se considerarán artículos docentes originales aquellos encaminados a mejorar y aportar nuevos datos sobre un enfoque práctico y didáctico de los aspectos docentes más importantes en las Ciencias de la Salud que ayuden a mejorar la práctica docente diaria.

La extensión máxima del texto será de 2500 palabras que deberá dividirse en los mismos apartados descritos con anterioridad para los Artículos Originales. Se acompañará de un resumen no estructurado de hasta 250 palabras. Se incluirán de 3 a 6 palabras clave. El número máximo de referencias será

de 20. Se podrá acompañar de hasta 3 tablas o figuras en los casos precisos.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Son artículos que de forma sistemática intentan mostrar las evidencias más actuales sobre un tema de interés médico o médico-quirúrgico, tratando de establecer una serie de pautas a seguir en determinadas patologías. Los artículos de revisión podrán ser solicitados al autor de forma directa por parte del Comité Editorial (Editor y Editores Asociados) o bien remitidos de forma voluntaria por los autores. Los artículos de este tipo serán revisados por el Comité Editorial, por algún miembro del Comité Asesor/Científico y por Revisores externos.

La extensión máxima del artículo será de 4000 palabras divididas en una Introducción, Cuerpo o Síntesis de la revisión (podrán usarse los apartados y subapartados que se estimen oportunos) y Conclusiones. El resumen no tendrá que ser estructurado, con un máximo de 300 palabras; Se añadirán de 3 a 6 palabras clave. Se permitirán hasta 50 referencias bibliográficas y hasta 10 tablas o figuras.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

CASOS CLÍNICOS

Se permitirá la elaboración y envío de casos clínicos interesantes y que tengan un mensaje que transmitir al lector. No se contemplarán casos clínicos habituales sin interés para la comunidad científica. La longitud máxima de los casos será de 1500 palabras distribuidas en una Introducción, Caso Clínico y Discusión. El resumen tendrá una extensión máxima de 150 palabras y no necesitará ser estructurado. Se permitirá un máximo de 3 figuras o tablas. El número máximo de referencias bibliográficas será de 10.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

CARTAS AL EDITOR

Los artículos incluidos en esta sección podrán ser comentarios libres sobre algún tema de interés médico o bien críticas a artículos recientemente publicados (últimos 6 meses) en la revista ACTUALIDAD MÉDICA. Se aceptarán de manera excepcional críticas o comentarios publicados en otras Revistas si tienen un interés médico evidente. La extensión máxima del texto enviado serán 500 palabras sin estructurar. No es necesario incluir resumen ni palabras clave. Se podrá incluir 1 figura o tabla acompañando a la carta. Como máximo se permiten 5 citas bibliográficas.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

CRÍTICA DE LIBROS

En esta sección se permitirá la crítica y comentarios sobre un libro de ámbito médico o médico-quirúrgico en el que se destacarán los aspectos formales y científicos más importantes, así como las aportaciones fundamentales del mismo a la práctica clínica. Su extensión máxima será de 500 palabras. No es necesario resumen, palabras clave y no se permitirán tablas ni figuras, salvo la portada del libro. El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx)

CARACTERÍSTICAS FORMALES EN LA REDACCIÓN DEL MANUSCRITO

Cada trabajo, en función del tipo de artículo anteriormente expresado, deberá estar estructurado según se ha comentado anteriormente. De forma general los trabajos deberán ir escritos en folios tamaño DIN A4 con una letra 10, tipo Times New Roman, con unos márgenes de 2.5cm y un interlineado de 1.5 con una justificación completa. Los artículos podrán enviarse en Español o Inglés, que son los dos idiomas oficiales de la revista.

Durante la elaboración del manuscrito podrán realizarse abreviaturas, previamente especificadas y aclaradas durante la primera aparición de la misma. Se recomienda uso de abreviaturas comunes en el lenguaje científico. No se permitirá el uso de abreviaturas en el título ni el resumen, únicamente en el cuerpo principal del manuscrito. Se deberá hacer especial hincapié en la expresión correcta y adecuada de las unidades de medida.

Se considera fundamental y norma editorial la elaboración de un manuscrito que siga las instrucciones anteriormente mencionadas en cuanto a la estructura de cada uno de los tipos de artículos. La estructura general de envío de los artículos será la siguiente:

- Página inicial o Página de Título

- Deberá incluirse un Título sin más de 90 caracteres que sea lo suficientemente claro y descriptivo

- Nombre y Apellidos de los autores

- Indicar las Instituciones en las que Trabajan o proceden los autores

- Incluir el nombre completo, dirección, e-mail y teléfono del Autor para la Correspondencia

- Título breve: Sin superar los 50 caracteres

- Añadir el número de palabras sin incluir el resumen y el número de tablas y figuras si procede

- Segunda página o Página de Resumen y palabras clave

Se deberá incluir un Resumen si procede según el tipo de manuscrito elegido, en el que deberá incluirse unos Objetivos (indicar el propósito del estudio de forma clara y breve), Métodos (indicando el diseño del estudio, pruebas realizadas, tipo de estudio, selección de pacientes y estudio estadístico), Resultados (los más significativos con su estudio estadístico correspondiente) y Conclusiones (énfasis en lo más importante de lo obtenido en el estudio).

A continuación se incluirán de 3 a 6 palabras clave.

- Tercera página o Página de Resumen y palabras clave en Inglés

Siguiendo las mismas recomendaciones anteriormente descritas pero en Inglés.

- Texto y Cuerpo del manuscrito con sus diferentes apartados

- Introducción: Se incluirán los antecedentes más importantes, así como los objetivos del estudio a realizar.

- Material y Métodos: Es la parte fundamental y más crítica del manuscrito. Es conveniente especificar el periodo de estudio, el tipo de población, el diseño del estudio, los procedimientos e instrumentos utilizados en el estudio, así como especificar los criterios de inclusión y de exclusión en el estudio. Deberá incluirse el tipo de estudio estadístico realizado según las características de las variables analizadas y estudiadas. Además se añadirá si cumple con los requisitos éticos del comité del centro donde se ha llevado a cabo el estudio.

- Resultados: Deben ser claros, concisos y bien explicados. Se intentará resumir parte de ellos en tablas para evitar confusión durante su lectura. Se recomienda no repetir información de las tablas o gráficos en el texto.

- Discusión: Deberán discutirse los resultados obtenidos con respecto a los datos existentes en la literatura de una forma clara y científicamente adecuada. Se evitará repetir comentarios o datos contemplados en los apartados anteriores en la medida de lo posible.

- Conclusiones: Se deberán destacar los aspectos más importantes de los datos obtenidos de forma breve y con mensajes directos

- Agradecimientos

- Referencias o Bibliografía: Se incluirán las citas que el autor o autores hayan utilizado en la elaboración del manuscrito y quede constancia de ellas en el texto. Deberán ser ordenadas según su aparición en el texto y ser incluidas dentro del mismo entre paréntesis y con números arábigos. En general, se deberán referenciar siguiendo las normas Vancouver. Se expresan diferentes ejemplos a continuación para facilitar la labor de los autores. En caso de que su tipo de cita no aparezca entre los ejemplos le rogamos revise las normas Vancouver.

- Artículo: Deberán incluirse todos, a menos que haya más de 6, en cuyo caso se pondrán los tres primeros y et al. Ej: Nisengard R, Bascones A. Invasión bacteriana en la enfermedad periodontal. *Avodontotoestomatol.* 1987; 3: 119-33

- Suplemento de un volumen: Shen HM, Zhang KF. Risk assesment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Supl 1: 275-82.

- Suplemento de un número: Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann ClinBiochem.* 1995; 32 (Pt 3): 303-6.

- Artículo en prensa: Deberá referenciarse igual que un artículo, pero añadiendo en la medida de lo posible el doi del artículo. Ej: Arrabal-Polo MA, Arias-Santiago S, Arrabal-Martin M. What is the value of boneremodeling markers in patients with calcium stones? *Urol Res.* doi: 10.1007/s00240-012-0511-1

- Libros: Carranza FA Jr. *Glickman's clinical periodontology.* Saunders: Philadelphia; 1984

- Capítulo de libros: Takey H, Carranza FA Jr. Treatment of furcation involvement and combined periodontal endodontic therapy. En Carranza FA Jr. *Glickman's clinical periodontology.* Saunders: Philadelphia; 1984.

- Editores o compiladores como autores: Norman JJ, Redfern SJ, editores. *Mental health care for elderly people.* Nueva York: Churchill Livingstone; 1996.

- Documento de Internet: Donaldson L, May, R. Health implications of genetically modified foods [citado 1 de enero. 2013]. www.doh.gov.uk/gmfood.htm

- Tablas

Deberán realizarse siguiendo los mismos criterios en cuanto a tamaño y tipo de letra, así como interlineado. Cada tabla será incluida en una página en solitario y deberá ser numerada de forma correlativa a su aparición en el texto con números arábigos. Deberá llevar un título explicativo del contenido de la misma de manera clara y concisa. El formato de realización de las tablas será .doc o .docx.

- Figuras

Tanto gráficos como fotografías, dibujos o esquemas se consideran figuras. Deberán numerarse según el orden de aparición en el texto. Cada una de las figuras llevará un título explicativo de las mismas, que deberá incluirse en el cuerpo principal del manuscrito tras las Referencias o Bibliografía. Cada figura deberá enviarse en un archivo individual principalmente en formato .tiff o .jpg con una calidad de al menos 300 dpi. Se añadirá además un pie de figura explicativo.

DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL Y PROCESO EDITORIAL

COPYRIGHT

La Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental, como propietaria de la revista ACTUALIDAD MÉDICA será responsable de custodiar los derechos de autoría de cada manuscrito. Los autores serán requeridos a completar un documento en lo que concierne a derechos de autoría y la transferencia de

estos derechos a la revista ACTUALIDAD MÉDICA (mirar documento). El autor corresponsal está obligado a declarar si alguno de los autores es empleado del Gobierno de Reino Unido, Canadá, Australia o Estados Unidos de América o si tiene algún tipo de relación contractual con estas instituciones. En el caso de que un autor sea empleado de Estados Unidos de América, deberá especificar el número de contrato, así como si la investigación ha recibido fondos de Estados Unidos. Igualmente, si alguno de los autores pertenece al Instituto Médico Howard Hughes, deberá especificarlo.

La firma y acuerdo de copyright incluye:

- Responsabilidad y garantía del autor: El autor garantiza que todo el material enviado a ACTUALIDAD MÉDICA es original y no ha sido publicado por otra revista o en otro formato. Si alguna parte del trabajo presentado ha sido previamente publicada, deberá especificarse en el manuscrito. El autor garantiza que ninguno de los datos presentados infringe los derechos de terceras partes y autoriza a ACTUALIDAD MÉDICA a usar el trabajo si fuera necesario.

- Transferencia de derechos de uso: El autor transfiere a la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental todos los derechos concernientes al uso de cualquier material derivado del trabajo aceptado para publicación en ACTUALIDAD MÉDICA, así como cualquier producto derivado respecto a la distribución, transformación, adaptación y traducción, tal y como figura en el texto revisado de la Ley de Propiedad Intelectual.

Por tanto, los autores no estarán autorizados a publicar o difundir trabajos aceptados para publicación en ACTUALIDAD MÉDICA sin la expresa autorización escrita de la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental.

PROCESO EDITORIAL Y REVISIÓN

Los manuscritos enviados son recibidos a través de un sistema de envío mediante página web y, una vez recibidos, ACTUALIDAD MÉDICA informará a los autores si el manuscrito es aceptado, rechazado o requiere de un proceso de revisión. El proceso de revisión comienza tras la recepción y una evaluación formal del Editor o Editores Asociados. Posteriormente, el manuscrito será enviado a un mínimo de dos revisores externos o miembros del Consejo Rector o del Comité Científico sin que aparezca el nombre de los autores, datos personales ni filiación de los mismos para asegurar un proceso de revisión apropiado y objetivo. Una vez que el informe del revisor externo se ha recibido, el Comité Editorial emitirá una decisión que será comunicada a los autores. El primer proceso de revisión no durará más de dos meses. Si un manuscrito requiere cambios, modificaciones o revisiones, será notificado a los autores y se les dará un tiempo para que realicen dichos cambios. La cantidad de tiempo dependerá del número de cambios que se requieran. Una vez que la versión revisada sea enviada, los autores deberán resaltar los cambios realizados en un color diferente y adjuntar una carta de respuesta a los revisores donde se argumentan de forma clara dichos cambios realizados en el manuscrito.

El Comité Editorial de ACTUALIDAD MÉDICA se reserva el derecho de hacer cambios o modificaciones al manuscrito con el consentimiento y aprobación de los autores sin hacer cambios en el contenido. El objetivo de estos cambios será mejorar la calidad de los manuscritos publicados en la revista.

Tras la aceptación de un artículo, este será enviado a prensa y las pruebas serán enviadas al autor. El autor deberá revisar las pruebas y dar su aprobación, así como indicar cualquier error o modificación en un plazo de 48 horas. Pasado este tiempo, no se admitirán cambios en el contenido científico, el número o el orden de los autores.

En caso de que aparezca errores tipográficos u otros errores en la publicación final, el Comité Editorial junto con los autores publicarán una aclaración apropiada en el siguiente número de la revista.

En el caso extremo en que los autores insistieran en hacer cambios no autorizados antes de la publicación final del artículo o violar los principios previamente mencionados, el Comité Editorial de ACTUALIDAD MÉDICA se reserva el derecho de no publicar el artículo.

AGRADECIMIENTOS

En agradecimiento, los revisores recibirán un diploma reconociendo su contribución a ACTUALIDAD MÉDICA (requiere solicitud al Editor). El Comité Editorial y Científico añadirán nuevos revisores cada año y están siempre abiertos a las sugerencias de los revisores para mejorar la calidad científica de la revista.

POLÍTICA EDITORIAL Y PUBLICIDAD

La revista ACTUALIDAD MÉDICA se reserva el derecho de admitir publicidad comercial relacionada con el mundo de las Ciencias de la Salud si lo cree oportuno.

ACTUALIDAD MÉDICA, su Consejo Editorial y Científico y la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental no se hacen responsables de los comentarios expresados en el contenido de los manuscritos por parte de los autores.

El Comité Editorial.

1 de abril de 2015.

IX PREMIO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN ONCOLÓGICA MARÍA JULIA CASTILLO

CONVOCATORIA 2016

OBJETIVOS

PROMOVER LA INVESTIGACIÓN ONCOLÓGICA
APOYAR SU DESARROLLO CIENTÍFICO
RECONOCER LA LABOR REALIZADA POR LOS
INVESTIGADORES

El premio,
cuya dotación es de **6.000 €**,
se concederá
al mejor trabajo publicado
por **investigadores españoles**
en revistas nacionales
o extranjeras, en el ámbito
de la **oncología básica o clínica**
en el año 2016

//////// Bases de la convocatoria en la página web de la fundación
www.fundacionanticancer.es

CONVOCA



FUNDACIÓN BENÉFICA ANTICÁNCER
San Francisco Javier y Santa Cándida
Centro Área de Investigación Oncológica

COLABORAN



Facultad de Medicina
Universidad de Granada



Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada

ACTUALIDAD M É D I C A

www.actualidadmedica.es



**Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada**