ACTUALIDAD MÉDICA
www.actualidadmedica.es

SECUENCIACIÓN MASIVA DE GENES DE HIPOACUSIA

Las terapias avanzadas en la medicina actual

Regiones codificantes con baja cobertura en la secuenciación masiva de genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante

Análisis del desarrollo de la curva del olvido dentro de un programa de formación en Soporte Vital Básico para alumnos del Grado de Medicina de la Universidad de Granada. Estudio piloto.

Caracterización de Agarosas Tipo I y Tipo VII para su uso en Ingeniería Tisular

Análisis de biocompatibilidad de cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad

Médicos generales, actividad física y ejercicio: hábitos personales y conocimientos académicos en Costa Rica

¿Es la enfermedad periodontal un factor de riesgo de quimio-osteonecrosis maxilar asociada a bisfosfonatos?

Complicaciones oculares después de cirugía de quiste aracnoideo: Síndrome de Terson

Linfoma maligno enmascarado como mieloma múltiple

Non-secretory multiple myeloma presenting as pathological fractures: a diagnostic dilemma

Escabiosis: la dermatoscopia puede ser la clave

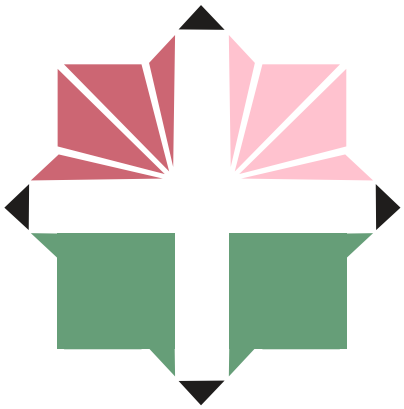
Controversias en el abordaje de la trombosis en cáncer: tromboprofilaxis secundaria extendida y retrombosis

SEPTIEMBRE/DICIEMBRE 2017

NÚMERO 802

DOI: 10.15568/am.2017.802

Con el patrocinio de:



FUNDACIÓN BENÉFICA ANTICÁNCER

San Francisco Javier y Santa Cándida

Gran Cruz de Beneficiencia. Distintivo Blanco

ACTUALIDAD MÉDICA

www.actualidadmedica.es

Actualidad
Médica

Comité editorial

Editores
Miguel Ángel Martín Piedra
Facultad de Medicina de Granada

Antonio Cárdenas Cruz
Complejo Hospitalario de Granada. España

Editores adjuntos
Miguel González Andrades
Harvard Medical School, Boston, MA. EEUU

Miguel Ángel Arrabal Polo
Complejo Hospitalario Universitario de Granada

Juan Jiménez Jaimez
Complejo Hospitalario de Granada. España

Comité rector

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

Profª. Dª. Aurora Valenzuela Garach
Decana 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

Comité científico y asesor

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

Jorge Alvar Ezquerra
OMS
Ginebra, Suiza

Manuel L. Martí
Pte. Academia Nacional de Medicina
Buenos Aires, Argentina

Pasquale Quattrone
Istituto Nazionale dei Tumori
Milán, Italia

Mª 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 Coímbra, Coimbra, Portugal

Alice Warley
King´s College
Londres, Reino Unido

Sebastián San Martín
Universidad de Valparaiso
Valparaiso, Chile

Antonio Alcaraz Asensio
Hospital Clinic
Barcelona, España

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

Diseño y maquetación
ARP Producciones

Imprenta
Gráficas Alhambra

Publicación cuatrimestral
(3 números al año)

© 2017. 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.

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

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 Beneficiencia. Distintivo Blanco

Actualidad Médica incluída en Latindex , IME y Google Scholar

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Para la redacción de los manuscritos y una correcta definición de los términos médicos, Actualidad Médica recomienda consultar el Diccionario de Términos Médicos de la Real Academia Nacional de Medicina

Actualidad
Médica

ÍNDICE

EDITORIAL

133 Las terapias avanzadas en la medicina actual
Advanced therapies in current Medicine

ORIGINALES

135 Regiones codificantes con baja cobertura en la secuenciación masiva de genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante
Encoding regions with low coverage in massive sequencing of genes of no syndromic autosomal dominant hearing loss
Iván Morales et al

140 Análisis del desarrollo de la curva del olvido dentro de un programa de formación en Soporte Vital Básico para alumnos del Grado de Medicina de la Universidad de Granada. Estudio piloto.
Analysis of the development of the forgetfulness curve within a program of training in Basic Life Support for students of the Degree of Medicine from de University of granada. Pilot study.
Laura Navarro Guillamón et al

145 Caracterización de Agarosas Tipo I y Tipo VII para su uso en Ingeniería Tisular
Type I and type VII agarose characterization for use in tissue engineering
Pedro Quintero Campos et al

151 Análisis de biocompatibilidad de cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad
Analysis of the biocompatibility of high viscosity glass ionomer cements
Ismael Angel Rodriguez et al

156 Médicos generales, actividad física y ejercicio: hábitos personales y conocimientos académicos en Costa Rica
Costa Rican General Practitioners, Physical Activity and Exercise: Personal Habits and Academic Knowledge
Sergio Jiménez Morgan et al

REVISIÓN

162 ¿Es la enfermedad periodontal un factor de riesgo de quimio-osteonecrosis maxilar asociada a bisfosfonatos?
Is periodontal disease a risk factor of maxillar chemical osteonecrosis associated with bisphosphonates?
Elena Beatriz Bermúdez Bejarano et al

CASOS CLÍNICOS

170 Complicaciones oculares después de cirugía de quiste aracnoideo: Síndrome de Terson
Ocular complications after aracnoidous cyst surgery: Terson's Syndrome
Irene Temblador Barba et al

173 Linfoma maligno enmascarado como mieloma múltiple
Malignant lymphoma masquerading as multiple Myeloma
Juan Daniel Díaz García et al

176 Non-secretory multiple myeloma presenting as pathological fractures: a diagnostic dilemma
Fracturas patológicas como forma de presentación de un mieloma múltiple no secretor: un dilema diagnóstico
Emilio Guirao Arrabal et al

ACTUALIDAD MÉDICA
www.actualidadmedica.es
© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Actualidad Médica.
ISSN: 0365-7965. Depósito Legal: GR-14-1958
Edita la Real Academia de Medicina y Cirugía de Andalucía Oriental.
Avda. Madrid 11. 18012 Granada · España.
www.ramao.es

178
CARTAS AL EDITOR
Escabiosis: la dermatoscopia puede ser la clave
Scabies: dermatoscopy could be the key
Elena Sola García et al

180
AULA DE ONCOLOGÍA
Controversias en el abordaje de la trombosis en cáncer: tromboprofilaxis secundaria extendida y retrombosis
Controversies in the approach to thrombosis in cancer: extended secondary thromboprophylaxis and rethrombosis
David Fernández Garay et al

ACTUALIDAD
MÉDICA
www.actualidadmedica.es

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102 : (802): 133

DOI:10.15568/am.2017.802.ed01

Las terapias avanzadas en la medicina actual

Advanced therapies in current Medicine

Antonio Campos Muñoz
Departamento de Histología e Ingeniería Tisular, Facultad de Medicina, Universidad de Granada (España)

Uno de los rasgos que caracteriza a la medicina de nuestro tiempo es la utilización de los genes, las células y los tejidos como nuevo recurso terapéutico. La normativa europea denomina a estos nuevos agentes terapéuticos medicamentos de terapias avanzadas y ha establecido para su fabricación, aplicación y uso una regulación muy estricta. Los medicamentos de terapia génica, de terapia celular, de ingeniería tisular o fruto de la combinación de algún tipo de ellos con productos sanitarios constituyen la base de esta nueva terapéutica.

La investigación básica en estas innovadoras terapias ha alcanzado en los últimos tiempos un desarrollo extraordinario. En Ingeniería tisular, por ejemplo, el número de publicaciones originales se ha duplicado en el último quinquenio. En lo que a la traslación clínica se refiere los resultados son, sin embargo, menos satisfactorios. Un estudio reciente indica que son casi mil los ensayos clínicos aprobados en terapias avanzadas de los que solo se han completado el 15%. Por medicamentos, el 53.6% corresponden a ensayos de terapia celular, el 22.8% a productos de Ingeniería tisular, el 22.4% a terapia génica y solo un 1.2% a productos combinados. Es importante resaltar que España ocupa en esta área una posición relevante. En el momento actual son ocho los medicamentos de terapias avanzadas autorizados en Europa.

De lo anteriormente expuesto es fácil deducir que en el campo de las terapias avanzadas existe una brecha importante entre lo aportado por la investigación básica y lo obtenido tras la traslación clínica. Si estas nuevas terapias pueden y deben incorporarse, por su potencial terapéutico, a la medicina del siglo XXI resulta imprescindible impulsar nuevas iniciativas que faciliten la inserción progresiva de las mismas en la práctica médica. Cuatro son las propuestas que podrían implementarse para disminuir la brecha arriba indicada.

En primer lugar parece imprescindible revisar los protocolos de ensayo clínico aplicables a estas nuevas terapias. No es posible mimetizar los protocolos que se aplican en los ensayos clínicos de fármacos. Las terapias avanzadas requieren nuevos diseños que, sin mermar la seguridad, permitan adaptar el protocolo del clásico ensayo farmacológico a la naturaleza biológica de los productos generados en estas nuevas terapias.

En segundo lugar es necesario dotar de instalaciones específicas y de personal especializado a los centros sanitarios para que puedan generar y aplicar este tipo de medicamentos y definir centros de referencia. Es fundamental, asimismo, reforzar la cadena logística al igual que ocurre en los trasplantes, pues las terapias avanzadas se parecen mucho más a los trasplantes que a los medicamentos tradicionales. Para ello hay que apoyar a los organismos que, en la administración, impulsan estos programas. La IATA (Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas) que, al igual que la ONT, es objeto de unánime reconocimiento en Europa y el resto del mundo, como he tenido ocasión de comprobar en numerosas ocasiones, constituye todo un ejemplo a imitar. Sin apoyar a estos organismos las terapias avanzadas no podrán nunca incardinarse con garantías en el ámbito asistencial.

La tercera propuesta atañe a la investigación y a la necesidad de impulsar la investigación preclínica ex vivo e in vivo, en los cuatro medicamentos de terapias avanzadas incorporando, por ejemplo, a las redes de investigación españolas y europeas a aquellos grupos que estén realmente orientados hacia dicha actividad. Se trata de crea una interfaz entre la investigación básica y la investigación clínica, absolutamente imprescindible para lograr una traslación exitosa.

La cuarta propuesta está relacionada con la necesidad de fomentar la enseñanza y el aprendizaje de las terapias avanzadas en los programas formativos de los residentes y de los alumnos de las facultades de medicina, en los que apenas está presente. De igual modo es fundamental desarrollar un programa de capacitación específica para los profesionales sanitarios que atienden a pacientes sujetos a este tipo de terapia. Sin una clara concienciación de lo que significa esta nueva forma de curar difícilmente podrán incardinarse las terapias avanzadas en el horizonte terapéutico de los profesionales sanitarios.

El desarrollo de las terapias avanzadas constituye uno de los más importantes retos de la medicina de nuestro tiempo. Para impulsar su potencial terapéutico, para hacerlo accesible a los pacientes, las terapias avanzadas deben dejar de formar parte de la medicina espectáculo para convertirse en una herramienta más a utilizar por el médico al servicio de los enfermos cuando su aplicación sea, al margen de cualquier otro recurso, la indicación terapéutica más solvente y eficaz. Y a conseguirlo debe dirigirse la creatividad y el esfuerzo de nuestra medicina.

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada

ACTUALIDAD MÉDICA

www.actualidadmedica.es

... desde **1911**

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 106 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

www.actualidadmedica.es

EDICIÓN IMPRESA Y EDICIÓN ONLINE

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102: (802): 135-139

Enviado: 31-10-2017
Revisado: 12-11-2017
Aceptado: 06-12-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.or01

Regiones codificantes con baja cobertura en la secuenciación masiva de genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante

Encoding regions with low coverage in massive sequencing of genes of no syndromic autosomal dominant hearing loss

Iván Morales, Pablo Román-Naranjo, Teresa Requena
Grupo de Otología y Otoneurología CTS495, Instituto Biosanitario de Granada (ibs.Granada)
Departamento de Medicina Genomica- Centro de Genómica e Investigación Oncológica – Pfizer/Universidad de Granada/ Junta de Andalucía (GENYO), Granada, España

Resumen

Introducción: La hipoacusia es una de las alteraciones sensoriales más frecuentes, afectando aproximadamente a uno de cada 500 nacimientos, y pudiendo producirse a cualquier edad en individuos sanos. Gracias a las técnicas de secuenciación masiva, como el análisis del exoma completo, y al uso de estrictos protocolos de filtrado de variantes, se han identificado más de 100 loci relacionados con la hipoacusia no sindrómica. El objetivo de este estudio es diseñar un protocolo para la identificación de las secuencias nucleotídicas de baja cobertura a partir de datos de secuenciación de exoma, particularmente en los genes causales de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante.

Materiales y métodos: Cincuenta y cinco individuos (15 pacientes con enfermedad de Meniere y 40 controles) fueron seleccionados para llevar a cabo un análisis genómico mediante secuenciación de exoma completo. Los exones de los genes asociados a hipoacusia no sindrómica autosómica dominante de estas 55 muestras fueron analizados mediante el software *Integrative Genome Viewer*. Los datos de cobertura se contrastaron con las bases de datos de secuencias de exoma y genoma actuales. Finalmente, se simularon las estructuras primaria y secundaria de las secuencias implicadas con la herramienta bioinformática *mfold*.

Resultados: Trece de los 34 genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante presentaron una baja cobertura. Veinte de las 24 secuencias exónicas con baja cobertura presentaban un contenido de GC más elevado del considerado como óptimo, y todas ellas contenían, al menos, una estructura secundaria. Los genes con un mayor número de exones con baja cobertura son *MYH14, WFS1 y P2RX2.*

Conclusiones:

1. La secuenciación del exoma humano muestra que muchos de los genes de hipoacusia autosómica no sindrómica dominante presentan baja cobertura en algunos de sus exones.
2. El análisis del contenido de guaninas y citosinas, y la presencia de estructuras secundarias determinan secuencias específicas con problemas de lectura.
3. Es necesario validar los resultados obtenidos por la Secuenciación de Nueva Generación para evitar posibles falsos positivos.

Palabras clave: hipoacusia, genética, exoma, bioinformática.

Abstract

Introduction: Hearing loss is one of the most frequent sensory alterations, affecting approximately one in 500 births, and it may occur de novo at any age in healthy individuals. Thanks to massive sequencing techniques, such as whole exome sequencing, and the use of strict variant filtering protocols, more than 100 loci related to non-syndromic hearing loss have been identified. The aim of this study is to design a protocol for the identification of low coverage nucleotide sequences from exome sequencing data, particularly in the genes responsible for non-syndromic autosomal dominant hearing loss.

Materials y methods: Fifty-five individuals (15 cases with Meniere's disease and 40 controls) were selected to perform a genomic analysis by whole exome sequencing. The exons of the genes related to non-syndromic autosomal dominant hearing loss of the whole sample were analyzed with Integrative Genome Viewer. The coverage was evaluated with the current genomic and exomic databases. Finally, we simulated the primary and secondary structures of the sequences involved with the mfold bioinformatic tool.

Keywords: hearing loss, genetics, exome, bioinformatics.

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Teresa Requena
Otology & Neurotology Group CTS495, GENYO,-Centre for Genomics and Oncological Research- Pfizer/University of Granada/Andalusian Regional Government
Avda de la Ilustración, 114 · 18016 Granada SPAIN
Phone. +34 958 715 500-160 / E-mail: mariateresa.requena@genyo.es

Results: Thirteen from the 34 genes involved in no syndromic autosomal dominant hearing loss had low coverage. Twenty from the 24 exonic sequences with low coverage had higher percentage of GC content than the optimal and all of them had one or more secondary structures. Genes with more exons with low coverage were: *MYH14, WFS1 and P2RX2.*
Conclusions:
1. Whole Exome Sequencing shows that most of the non-syndromic autosomal dominant hearing loss genes had low coverage in some exons.
2. The analysis of the guanines and cytosines content, and the presence of secondary structures have determined specific sequences with read problems.
3. The results of Next Generation Sequencing must be validated to avoid possible false positives.

INTRODUCCIÓN

La hipoacusia es una de las alteraciones sensoriales más frecuentes, afectando aproximadamente a uno de cada 500 nacimientos, y pudiendo producirse *de novo* a cualquier edad en individuos sanos (1). Su etiología es diversa, pudiendo originarse tanto por factores medioambientales (ruido, virus o sustancias ototóxicas) como por factores genéticos. A diferencia de los factores medioambientales, que pueden ser reducidos o prevenidos a través de medidas de concienciación pública, la hipoacusia generada por un trasfondo genético sigue presentando grandes retos. Clínicamente, la hipoacusia se puede clasificar como sindrómica o no sindrómica dependiendo, respectivamente, de si se presenta junto a otro fenotipo clínico (discapacidad visual, enfermedad renal crónica…) o no. Las hipoacusias no sindrómicas son las más frecuentes, presentándose en, aproximadamente, el 70% de los casos (2,3).

Gracias a las técnicas de secuenciación masiva, como el análisis del exoma completo (WES), y al uso de estrictos protocolos de filtrado de variantes, se han identificado más de 100 loci relacionados con la hipoacusia no sindrómica (4-6). La identificación de variantes genéticas que causan el deterioro de la audición ha permitido un mejor conocimiento de las vías moleculares que están involucradas en la regulación de la percepción auditiva. El conocimiento de estas vías nos proporciona un punto de partida para el desarrollo de opciones terapéuticas para las personas afectadas por enfermedades relacionadas con la audición (7). La eficacia del WES y el filtrado de variantes es muy alta debido a que el 85% de las variantes causantes de enfermedades se encuentran en regiones exónicas (8). Además, el exoma solo representa 1-2% del genoma, lo que reduce considerablemente el coste económico y facilita el tratamiento de los datos (9). Como contrapartida, la cobertura del WES es del 90%, existiendo de esta manera regiones codificantes de difícil lectura de las que no se obtienen suficientes datos. Esto se debe a problemas inherentes a las estructuras secundarias que pueden adoptar los exones o a su contenido de bases GC. Las estructuras de difícil lectura pueden deberse a repeticiones (ACC, CCG…), repeticiones Alu, regiones horquilla o bucles, colas poli-A/T y otros motivos que causan compresión en el ADN. Por otro lado, el contenido de GC mínimo que causa problemas aún no está claramente determinado, pero se sitúa en torno al 60-65% en regiones de al menos 100 pares de bases (10). Todo ello conlleva una enorme dificultad para secuenciar ciertos fragmentos de ADN y da lugar a regiones en las que se ha perdido total o parcialmente la información. Por consiguiente, esto implica reanalizar estas regiones con otras técnicas más precisas pero más costosas, como es el re-análisis del genoma completo o la secuenciación Sanger. La identificación de estas regiones *in sílico* puede prevenir la pérdida de regiones del genoma relevantes y que podrían incluir variantes candidatas. Por tanto, el desarrollo de un protocolo de identificación de estas regiones es un paso crucial en la identificación variantes en las enfermedades poco frecuentes que puede concluir en investigaciones de alto impacto y una mejor comprensión de las bases biológicas de las enfermedades hereditarias (11).

El objetivo de este estudio es diseñar un protocolo para la identificación de las secuencias nucleotídicas de baja cobertura (secuencias de muy difícil lectura) a partir de datos de secuenciación de exoma, particularmente en los genes dominantes relacionados con hipoacusia no sindrómica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes y secuenciación del exoma completo

Cincuenta y cinco individuos (15 casos con enfermedad de Meniere y 40 controles), fueron seleccionados para obtener muestras de sangre, realizar la extracción de ADN y la secuenciación del exoma completo (12-14). El ADN fue aislado a partir de sangre periférica mediante QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Los exones y regiones circundantes (UTR 3' y 5') fueron capturadas mediante el kit *Agilent's All Exon 50MB.* Las condiciones y los cebadores empleados se encuentran disponibles en la casa comercial. Las muestras fueron secuenciadas en la plataforma SOLiD 5500xl. El alineamiento y el mapeo se realizó mediante el uso del software *Lifescope v2.5* y el genoma de referencia *GRCh37/hg19*, dando lugar a un archivo .BAM por individuo.

Este estudio con muestras biológicas humanas fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación del Hospital y se siguieron los estándares éticos reconocidos por la Ley Biomédica de España (15) y los principios de la Declaración de Helsinki de 1975 (16). Todos los pacientes participantes en el estudio fueron informados de los objetivos del mismo y firmaron el consentimiento informado.

Análisis bioinformático

Análisis de exones en genes dominantes asociados a hipoacusia no sindrómica.

Los archivos .BAM fueron visualizados en el software *Integrative Genome Viewer (IGV)* para detectar fallos de secuenciación en los exones de los 34 genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante descritos en la base de datos de hipoacusia hereditaria (http://hereditaryhearingloss.org/). Los exones fueron clasificados en 3 categorías según la calidad de su lectura: "Buena" para aquellos con una cobertura >20 lecturas (>20X); "Parcial" para una cobertura entre 5-20 lecturas (5-20X) y "Mala" para una cobertura <5 (<5X). Todos los exones que presentaban fallos de lectura en el 100% de las muestras fueron comparados frente a las bases de datos ExAC y GnomAD (17). Los exones fueron numerados, siendo siempre el primero el de la izquierda obviando la dirección de la lectura del gen. Las secuencias que comprendían estos exones fueron analizadas mediante un *script* realizado *ad hoc* por el grupo de Otología y Otoneurología para estimar el número de bases que contenían. Para la búsqueda de estructuras secundarias en estas secuencias fue usada la herramienta virtual *mfold* (18). Estas estructuras fueron generadas bajo las condiciones presentes durante la secuenciación en la plataforma de secuenciación SOLiD 5500xl: 98ºC de temperatura y 3M de concentración de sodio.

RESULTADOS

Genes dominantes causales de hipoacusia autosómica no sindrómica

En conjunto, los 34 genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante estudiados comprenden un total de 592 exones. Veinticuatro de estos exones, pertenecientes a 13 genes, presentan una baja cobertura. Los exones fueron clasificados como "Ilegibles" cuando un exón presentó baja cobertura en el 100% de las muestras (**Tabla 1-2**). Los resultados muestran que genes muy destacados para la hipoacusia (*MYH14*, *WFS1* y *P2RX2*) presentan mala cobertura en muchos de sus exones. Además, 20 de las 24 secuencias exónicas presentan un contenido de GC más elevado del considerado como óptimo (**Tabla 2 - ver en la página 138**). Las secuencias que alcanzaron los valores más elevados

de GC fueron: el exón 1 de *KCNQ4* con un 79,55%; el exón 2 de *COCH* con un 74.47%; el exón 1 de *MYH14* con un 72,77%; el exón 1 de *P2RX2* con un 72,09% y el exón 27 de *DIAPH1* con un 71.55%. Por otro lado, cabe destacar que el exón 9 de *HOMER2* tiene 5 pares de bases, siendo 3 de las bases citosinas, lo que posiblemente causa la dificultad de su lectura. Finalmente, se identificó que el exón 28 de *DIAPH1* y el exón 1 de *MYH14* presentan estructuras secundarias especialmente complejas respecto a las demás. El exón 1 de *KCNQ4* fue el que presentó más bucles en su secuencia (**Figura 1 - ver en página siguiente**).

DISCUSIÓN

Las tecnologías de secuenciación masiva del genoma tienen algunas limitaciones que estamos comenzando a descubrir. Existen regiones que, bien por su estructura primaria con alto contenido en GC o por su estructura secundaria, son difíciles de secuenciar. Estas regiones pueden contener variantes causales de enfermedades poco frecuentes, como la hipoacusia neurosensorial o la enfermedad de Meniere. Según los resultados de este estudio, algunos de los genes dominantes relacionados con hipoacusia tienen un número considerable de exones con baja cobertura (*MYH14, WFS1 y P2RX2*). En primer lugar, *MYH14* está descrito como un gen de hipoacusia importante, el cual causa hipoacusia no sindrómica autosómica dominante prelocutiva grave. Se han descrito dos variantes no sinónimas en este gen (c.572A>G y c.73C>T) mediante secuenciación dirigida, un método de Secuenciación de Nueva Generación (NGS). La segunda variante se encuentra en el exón 2 (19), una región que en nuestros datos de secuenciación muestran baja cobertura en el 100% de las muestras y que, además, bajo las condiciones de la plataforma SOLiD, forma una estructura secundaria compleja. Por otro lado, variantes en el gen *WFS1* están directamente relacionadas con hipoacusia no sindrómica de baja frecuencia. Se han identificado 2 mutaciones que provocan la aparición de un codón de STOP prematuro (codón sinsenti-

Gen	Exón	NM	Coord.	5-20X	<5X
DIABLO	6	019887	Chr12:122710512-122710560	0	100
TBC1D24	6	001199107	Chr16:2550269-2550491	36,36	63,64
CD164	6	001142404	Chr6:109703407-109703580	43,64	56,36
WFS1	1	001145853	Chr4:6279182-6279414	52,73	42,27
	2		Chr4:6288820-6288902	54,55	45,45
	5		Chr4:6293644-6293724	69,09	30,91
	7		Chr4:6302384-6304195	100	0
CEACAM16	5	001039213	Chr19:45211133-45211459	100	0
HOMER2	9	004839	Chr15:83621282-83621286	0	100
CRYM	8	001888	Chr16:21289402-21289571	0	100
COCH	2	004086	Chr14:31344262-31344309	1,82	98,18
P2RX2	1	170683	Chr12:133195403-133195575	3,64	96,36
	4		Chr12:133196430-133196505	12,73	87,27
	10		Chr12:133198060-133198557	100	0
KCNQ4	1	004700	Chr1:41249766-41250079	7,27	92,73
	4		Chr1:41284177-41284352	10,91	89,09
DIAPH1	15		Chr5:140953059-140953775	100	0
	27		Chr5:140896417-140896574	7,27	92,73
MYH14	1	001145809	Chr19:50713620-50714027	72,73	27,27
	26		Chr19:50775817-50775988	36,36	63,64
	31		Chr19:50783488-50783640	92,73	7,27
	32		Chr19:50784851-50785099	100	0
MYO7A	20	000260	Chr11:76890781-76890999	36,36	63,64
	37		Chr11:76914105-76914262	3,64	96,36

Tabla 1. Genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante con exones "llegibles". Exones con baja cobertura en un 100% de las muestras (sumando 5-20X con <5X). NM: Transcrito NM. Coord.: Coordenadas cromosómicas. 5-20X: porcentaje de muestras con un número de lecturas de entre 5-20. <5X: porcentaje de muestras con un número lecturas por debajo de 5.

Gen	Exón	nBases	%GC	nBucles
DIABLO	6	49	53,06	1
TBC1D24	6	222	67,57	1
CD164	6	174	66,67	1
WFS1	1	231	70,13	1
	2	82	58,54	1
	5	80	70,00	1
	7	1811	61,51	2
CEACAM16	5	326	64,42	1
HOMER2	9	5	60,00	0
CRYM	8	167	68,86	1
COCH	2	47	74,47	1
P2RX2	1	172	72,09	1
	4	75	64,00	1
	10	497	62,17	1
KCNQ4	1	313	79,55	5
	4	174	66,67	2
DIAPH1	15	715	58,90	1
	27	116	71,55	*
MYH14	1	404	72,77	*
	26	171	67,25	1
	31	756	57,94	1
	32	212	67,45	1
MYO7A	20	218	70,18	1
	37	157	66,24	2

*Tabla 2. Estructura primaria y secundaria de los genes de hipoacusia no sindrómica dominante con exones "llegibles". nBases: número de bases totales de la secuencia. %GC: porcentaje de bases GC de la secuencia. nBucles: número de estructuras secundarias encontradas en la secuencia. *: Estructura compleja.*

do) en el exón 8 de este gen (c.2086C>T y c.2108G>A) mediante análisis de ligamiento (20). Nuestro estudio muestra que este exón tiene baja cobertura en el 100% de las muestras y presenta un contenido de GC problemático según la bibliografía (61.51%). Por último, el gen *P2RX2* está involucrado en el correcto funcionamiento de los canales iónicos P2X2 activados por ATP que se encuentran en las células sensoriales y de soporte de la cóclea. Mediante un análisis de ligamiento, Faletra *et al*. han descrito una mutación sinsentido (c.1057C>G) que afecta a un residuo altamente conservado entre las especies (21). Esta mutación ocurre en el exón 10, el cual presenta baja cobertura en el 100% de las muestras de nuestro estudio. Además, esta secuencia presenta un contenido alto de GC (62.17%).

DIAPH1 y *KCNQ4* son otros de los genes destacados en nuestro estudio. Por un lado, el gen *DIAPH1* codifica una proteína encargada de unirse a los extremos de actinas sin ramificar para reducir la velocidad de despolimerización y polimerización de estas regiones. La variante c.3634+1G>T causa DFNA1, enfermedad caracterizada por una hipoacusia progresiva que comienza desde la infancia. Esta variante ocurre cerca del extremo C-terminal, el cual interacciona con el N-terminal, produciendo la activación de DIA1, proteína que juega un papel importante en la morfología celular y la organización del citoesqueleto. Por otro lado, se ha descrito una variante (c.3610C>T) en el exón 27 que resulta en un incremento de la polimerización de actina, produciéndose microvellosidades alargadas (22). El exón próximo a esta región C-terminal (exón 27) tiene baja cobertura en el 100% de las muestras, consta de un elevado contenido de GC (71.55%) y la estructura que se puede originar durante la secuenciación es especialmente compleja.

Por otro lado, el gen *KCNQ4* codifica un canal iónico de potasio que juega un papel fundamental en la fisiología de esta enfermedad autosómica dominante progresiva relacionada con hipoacusia de alta frecuencia. Kamada *et al*. (23) identificaron una deleción heterocigótica de 1 pb (211delC) en el exón 1 de *KCNQ4* que daba lugar a un truncamiento de la proteína, perdiéndose los dominios transmembrana. Los individuos afectados por esta mutación presentaban síntomas mucho menos severos que otros pacientes con mutaciones sinsentido en *KCNQ4*. Nuestro estudio ha determinado que el exón 1 de *KCNQ4* tiene baja cobertura en el 100% de las muestras, así como un alto contenido de GC (79.55%) y, de todos los exones afectados, es el que más estructuras secundarias presentaba en su secuencia.

Veinte de los 24 exones de baja cobertura identificados presentan un elevado contenido de GC (>60%). Estudios que respaldan este intervalo nos muestran que el uso de tampones, aditivos (DMSO, betaína), métodos de purificación, el medio de carga y las condiciones de los ciclos no juegan un papel determinante en la calidad de la secuenciación estadísticamente significativo. Sin embargo, el uso de cebadores pequeños (<3 pmol) si produce una secuenciación con menos cobertura y peor calidad (24). Por otro lado, la presencia de estructuras secundarias de tipo horquilla, como las que observamos en los exones de *DIAPH1* y *KCNQ4*, dificultan la correcta secuenciación de estas regiones, tal y como se nos muestra en estudios realizados con plásmidos (25). Todos los exones presentaron, al menos, una hor-

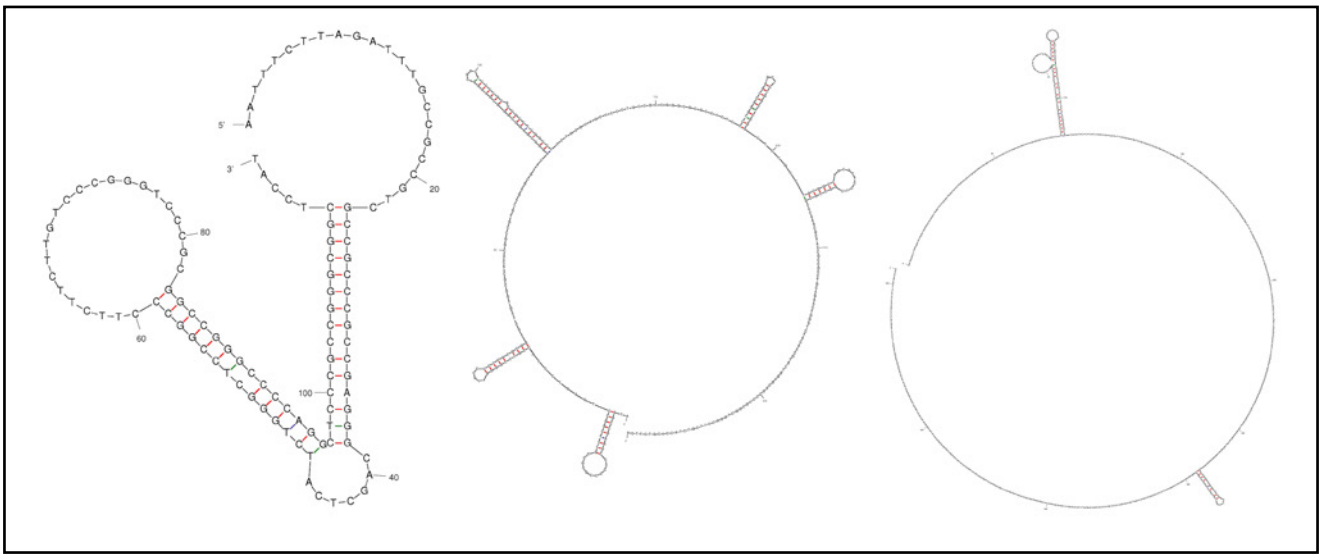


Figura 1. Estructuras secundarias destacables en algunos genes de hipoacusia no sindrómica autosómica dominante. Las secuencias fueron seleccionadas por el número de estructuras secundarias o la complejidad de estas. A: Exón 27 de DIAPH1. B: Exón 1 de KCNQ4. C: Exón 1 de MYH14.

quilla en su secuencia. No obstante, la presencia de las llamadas colas de poli-A o poli-T y otros elementos, como continuas repeticiones y motivos 5'-YGN$_{1-2}$AR (Y=primidina, R=purina, N=cualquier base), también afectan a la calidad de la secuenciación (24, 25). Estos resultados se deben a la baja sensibilidad de la técnica (~73%) que puede resultar en inespecificidades de los cebadores. Estos datos hacen ver que, independientemente del método usado, todos los resultados de la secuenciación masiva deben ser inmediatamente validados mediante secuenciación Sanger, especialmente las variantes candidatas (26). Solo de este modo podremos afirmar que una variante no es un falso positivo.

A medida que este tipo de problemas vayan desapareciendo en las técnicas de secuenciación e identificación de variantes, el análisis genético de variantes comunes será más usado en algunos entornos clínicos. El precio cada vez más bajo de las técnicas de secuenciación junto al mayor conocimiento sobre las variantes comunes que predisponen a hipoacusia hacen pensar que las pruebas genéticas irán ganando espacio en el diagnóstico de la hipoacusia, permitiendo un diagnóstico precoz que permita a los pacientes proteger su audición.

CONCLUSIONES

Los datos de secuenciación del exoma humano muestran que la mayoría de los genes de hipoacusia autosómica dominante presentan baja cobertura en al menos un exón.

El análisis del contenido de GC y la presencia de estructuras secundarias han determinado secuencias específicas con problemas de lectura.

Es necesario validar los resultados obtenidos por la Secuenciación de Nueva Generación para evitar posibles falsos positivos.

AGRADECIMIENTOS

A José Antonio López Escamez, por la revisión crítica de este manuscrito.

Este Trabajo forma parte del Trabajo fin de Master de Ingeniería Titular y Terapias Avanzadas de Iván Morales Esquina.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Thompson DC, McPhillips H, Davis RL, Lieu TL, Homer CJ, Helfand M. Universal newborn hearing screening: summary of evidence. JAMA. 2001; 286(16):2000-10.

2. Shearer AE, Hildebrand MS, Smith RJH. Hereditary hearing loss and deafness overview. GeneReviews; 1999-2017.

3. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. N Engl J Med. 2016; 354(20):2151-64.

4. Angeli S, Lin X, Liu XZ. Genetics of hearing and deafness. Anat Rec. 2012; 295, 1812–1829

5. Richardson GP, de Monvel JB, Petit C. How the genetics of deafness illuminates auditory physiology. Annu Rev Physiol. 2011; 73, 311–334.

6. Dror AA, Avraham KB. Hearing impairment: a panoply of genes and functions. Neuron. 2010; 68, 293–308

7. Ulrich M, Barr-Gillespie PG. New treatment options for hearing loss. Nature Rev Drug Disc. 2015.

8. Rabbani B, Tekin M, Mahdieh N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. J Hum Genet. 2014; 59(1):5–15.

9. Warr A, Robert C, Hume D, Archibald A, Deeb N, Watson M. Exome Sequencing: Current and Future Perspectives. G3 (Bethesda). 2015; 5(8):1543–50.

10. Kieleczawa J. Fundamentals of sequencing of difficult templates--an overview. J Biomol Tech. 2006; 17(3):207–17.

11. López-Escamez JA. Papel de la medicina genómica en las enfermedades del oído medio e interno. Acta Otorrinolaringol. 2012; 63(6):470-479.

12. Requena T, Cabrera S, Martin-Sierra C, Price SD, Lysakowski A, Lopez-Escamez JA. Identification of two novel mutations in FAM136A and DTNA genes in autosomal-dominant familial Meniere's disease. Hum Mol Genet. 2015; 24(4):1119–26.

13. Martín-Sierra C, Requena T, Frejo L, Price SD, et al. A novel missense variant in PRKCB segregates low-frequency hearing loss in an autosomal dominant family with Meniere's disease. Hum Mol Genet. 2016; 25(16):3407–15.

14. Martín-Sierra C, Gallego-Martinez A, Requena T, Frejo L, Batuecas-Caletrío A, Lopez-Escamez JA. Variable expressivity and genetic heterogeneity involving DPT and SEMA3D genes in autosomal dominant familial Meniere's disease. Eur J Hum Genet. 2017; 25(2):200–7.

15. España. Ley 14/2007, de 3 de Julio, de Investigación Biomédica. Boletín Oficial del Estado; 4 de Julio de 2007. pp. 28826-28848.

16. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. JAMA. 2013 Nov 27; 310(20):2191.

17. Lek M, Karczewski KJ, Minikel E V, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. Nature. 2016; 536(7616):285–91.

18. Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. Nucleic Acids Res. 2003; 31(13):3406–15.

19. Kim BJ, Kim AR, Han JH, Lee C, Oh DY, Choi BY. Discovery of MYH14 as an important and unique deafness gene causing prelingually severe autosomal dominant non-syndromic hearing loss. J Gene Med. 2017; 19(4):e2950.

20. Sun Y, Cheng J, Lu Y, et al. Identification of two novel missense WFS1 mutations, H696Y and R703H, in patients with non-syndromic low-frequency sensorineural hearing loss. J Genet Genomics. 2011; 38(2):71–6.

21. Faletra F, Girotto G, D'Adamo AP, Vozzi D, Morgan A, Gasparini P. A novel P2RX2 mutation in an Italian family affected by autosomal dominant non-syndromic hearing loss. Gene. 2014; 534(2):236–9.

22. Ueyama T, Ninoyu Y, Nishio S, et al. Constitutive activation of DIA1 (DIAPH1) via C-terminal truncation causes human sensorineural hearing loss. EMBO Mol Med. 2016; 8(11):1310–24.

23. Kamada F, Kure S, Kudo T, et al. A novel KCNQ4 one-base deletion in a large pedigree with hearing loss: implication for the genotype-phenotype correlation. J Hum Genet. 2006; 51(5):455–60.

24. Kieleczawa J. Fundamentals of sequencing of difficult templates--an overview. J Biomol Tech. 2006; 17(3):207–17.

25. Yamakawa H, Nakajima D, Ohara O. Identification of sequence motifs causing band compressions on human cDNA sequencing. DNA Res. 1996; 3(2):81–6.

26. Chang Y-S, Huang H-D, Yeh K-T, Chang J-G. Evaluation of whole exome sequencing by targeted gene sequencing and Sanger sequencing. Clin Chim Acta. 2017 Aug; 471:222-32.

Actualidad
Médica

ORIGINAL

Actual. Med.
2017; 102: (802): 140-144

Enviado: 04-09-2017
Revisado: 06-09-2017
Aceptado: 21-11-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.or02

Análisis del desarrollo de la curva del olvido dentro de un programa de formación en Soporte Vital Básico para alumnos del Grado de Medicina de la Universidad de Granada. Estudio piloto.

Analysis of the development of the forgetfulness curve within a program of training in Basic Life Support for students of the Degree of Medicine from de University of granada. Pilot study.

Antonio Cárdenas Cruz[1], Isabel María Santiago Suárez[2], Laura Navarro Guillamón[3], Dolores Purificación Cárdenas Cruz[4], Francisco Javier Gómez Jiménez[5], Francisco Manuel Parrilla Ruiz[4]

[1]Complejo Hospitalario Universitario de Granada
[2]Alumna de Sexto de Grado de Medicina. UGR
[3]Hospital de Poniente. Almería
[4]Hospital de Guadix. Granada
[5]Departamento de Medicina. Universidad de Granada

Resumen

Objetivo: El objetivo del estudio es analizar la curva del olvido en el aprendizaje del Soporte Vital Básico en estudiantes de medicina de la Universidad de Granada.

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional, descriptivo transversal, que establece como población diana a los estudiantes de Grado de Medicina de la Universidad de Granada que cursan cuarto y quinto curso. Periodo de estudio comprendido entre octubre de 2015 y enero de 2017.Se emplearon los datos obtenidos en una evaluación inicial que se realizó en la Facultad de Medicina, y los de una reevaluación que se les realizó a una muestra de cada uno de los cursos. Se incluyeron en el estudio de forma voluntaria todos los alumnos matriculados en la asignatura bases de la medicina interna II para cada uno de los cursos académicos. El análisis se realizó utilizando medidas de tendencia central, tablas de frecuencias y posteriormente se realizó un análisis estadístico mediante la Prueba T de Student.

Resultados: Los alumnos de cuarto consiguieron una media en la primera evaluación de 13,91 sobre 15 puntos, mientras que en la segunda la media fue de 13,81. Por otro lado, los alumnos de quinto consiguieron una media de 13,80 en la primera evaluación y una de 13,18 en la reevaluación. Estos datos nos hablan de que, a pesar de que los cursos resultaron muy satisfactorios en ambos cursos, encontramos un mayor impacto de la curva del olvido en alumnos que llevan más tiempo sin realizar un reciclaje en Soporte Vital Básico.

Conclusiones: A pesar de existir una disminución de los conocimientos y habilidades relacionados con la práctica del soporte vital al año de recibir la formación específica en ambos grupos, no existen diferencias estadísticamente significativas para los sujetos de nuestro grupo que obliguen a establecer programas de reciclaje entre seis y nueve meses como establecen las recomendaciones actuales. A la luz de nuestro estudio, recomendamos el desarrollo de programas específicos de reciclaje en períodos de tiempo superiores a los doce meses después de recibir la formación inicial.

Palabras clave: Parada cardiorrespiratoria, reanimación cardiopulmonar básica, soporte vital básico, desfibrilación externa automatizada, formación en soporte vital para alumnos de medicina, curva del olvido en la formación de sanitarios, electronic leaarning, blended learning.

Abstract

Aim: The aim of this study was to analyze the oblivion curve after the learning of Basic Life Support (BLS) in medicine students from the University of Granada.

Method: This was an observational, transversal descriptive study, which established as target population students from the Faculty of Medicine (University of Granada) who attended fourth and fifth year. The Study period comprised

Keywords: Cardiac arrest, basic reanimation, basic life support, automated external defibrillation, training in basic life

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Laura Navarro Guillamón. Servicio de Cuidados Críticos, Hospital de Poniente, Carretera de Almerimar, 31, 04700 El Ejido, Almería, España.
Telefono: 654148634.
lauranavarroguillamon@gmail.com

between October 2015 and January 2017. The data which was used was obtained in an initial evaluation that was done at the Faculty of Medicine and in a re-evaluation which was applied to a selected sample of students from each year. All the students included voluntarily in the study were enrolled in the subject Internal Medicine II. The analysis was carried out using measures of central tendency, frequency tables and after that, a statistical analysis using the Student´s T-test.
Results: Fourth year students obtained an average in the first evaluation of 13,91 over 15 points, while in the second evaluation it was 13,81. Meanwhile, fifth year students achieved an average of 13,80 in the first evaluation and of 13,18 in the re-evaluation. This data speak of very satisfactory results for students in both years, although the impact of the oblivion curve is higher in students who have spent more time without taking a recycling course of BLS.
Conclusions:.Even though there is a decrease of knowledge and abilities related to the practice of basic life support a year after receiving the specific training in both groups, there are not differences statistically significant for the subjects of our group that would make us establish recycling programs after six or nine months, as advice the actual recommendations. 2.Based on the results we obtained, we would recommend the development of specific recycling programs in periods of time bigger than twelve months after receiving the initial training.

support for medicine students, oblivion curve in the training of health personnel, electronic learning, blended learning

INTRODUCCIÓN

La Parada Cardiorrespiratoria (PCR) se define como el cese brusco e inesperado de las funciones cardiorrespiratorias, situación potencialmente reversible y tiempo dependiente. Siendo la Reanimación Cardiopulmonar (RCP) el conjunto de acciones destinadas a sustituir dichas funciones (1) .

El Concepto de Soporte Vital Básico (SVB) es un término más amplio que incluye: la prevención de la PCR, y en el supuesto de que ocurriera, la activación precoz del sistema de emergencias, la puesta en marcha de las técnicas que se incluyen dentro de la RCP Básica y finalmente el desarrollo de la Desfibrilación Externa Automatizada (DEA).

La Cadena de Supervivencia es el conjunto de actuaciones que cuando son realizadas de forma ordenada y en el tiempo adecuado han demostrado establecer una reducción de la mortalidad del paciente que ha sufrido una PCR (1), y esta Cadena de la Supervivencia será tan fuerte como lo sea su eslabón más débil (2).

El 80% de las PCR extrahospitalarias, son debidas a una Fibrilación Ventricular (FV) o a una Taquicardia Ventricular Sin Pulso (TVSP), arritmias que sólo pueden ser tratadas mediante la Desfibrilación, y por cada minuto que ésta se retrase, disminuye entre un 7 y un 10% la probabilidad de que sea efectiva (2).

En relación a la divulgación de la RCP básica a la población no sanitaria, nos encontramos con dos problemas principales; el recuerdo de lo aprendido y la capacidad de mantenimiento de los programas de formación, principalmente por los altos costes económicos derivados de estos (3).

En los últimos años se ha abierto el debate sobre la rentabilidad del uso de la enseñanza virtual (electronic-learning) a las diferentes acciones formativas en el aprendizaje del SVB. Sin embargo, hay varios estudios que han demostrado que el electronic-learning, a pesar de ser muy útil a la hora de obtener conocimientos, no lo es tanto cuando hablamos de la obtención de habilidades y actitudes, ambos imprescindibles en la formación del SVB, pues su objetivo fundamental es la aplicabilidad. Aparece entonces el blendend-learning, o la combinación de la enseñanza presencial con la no presencial (3).

El objetivo de este estudio es analizar el desarrollo de la curva del olvido en relación con el capital cognitivo y el capital psicomotriz que adquieren los alumnos de Grado de Medicina de la Universidad de Granada tras recibir su formación específica en Soporte Vital Básico.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio:

Se trata de un estudio observacional, descriptivo transversal, que establece como población diana a los estudiantes de Grado de Medicina de la Universidad de Granada que cursaron cuarto y quinto año. Esta población objetivo realizó su formación correspondiente en Soporte Vital Básico entre Octubre de 2015 en el caso de los alumnos de quinto, y en Octubre de 2016 en el caso de los de cuarto, siendo el período de estudio (que incluye tanto formación como evaluación) el comprendido entre octubre de 2015 y enero de 2017 ya que posteriormente a la formación se realizó una evaluación de los conocimientos y habilidades psicomotrices mediante una secuencia integrada de SVB seis meses después de finalizada dicha formación.

Características del curso

Basado en las recomendaciones del European Resuscitation Council (ERC) de los años 2010 para los alumnos que actualmente cursan quinto de Grado y ERC 2015 para los alumnos que actualmente cursan cuarto de Grado.

Los alumnos que cursaban el tercer año del Grado en Medicina (2014-2015 en el caso de los estudiantes de quinto, y 2015-2016 en el caso de los que cursan cuarto) recibieron una hora de teoría y una práctica por grupos de cuatro horas de duración. Paralelamente disponían de formación online continuada, utilizando una plataforma de teleformación moodle 2.4.

Una vez finalizada la formación se realizó una evaluación de competencias científico / técnicas en materia de soporte vital que consistió en la simulación de una situación de PCR en el medio extrahospitalario en la que el estudiante tendría que realizar toda la secuencia de SVB durante un máximo de 8 minutos. Gracias a esta simulación integrada en SVB se ponían de manifiesto las diferencias existentes entre el nivel de adquisición de conocimientos y habilidades durante la fase de formación y el nivel que persiste seis meses después de la realización de la formación específica, con el objetivo de establecer la curva del olvido específica para esta materia.

Las variables analizadas fueron las que establece el ERC como estándar de calidad de la formación en SVB.

Seis meses después de la formación recibida en cada uno de los cursos académicos estudiados, se realizó una selección aleatoria y voluntaria de un grupo de alumnos pertenecientes a cada uno de los dos cursos y se sometieron al mismo proceso de evaluación de competencias científico técnicas en SVB que habían realizado en los años anteriores.

Variables a estudio

Se analizaron los siguientes parámetros, cada uno de los cuales se valoraba como un punto sobre los quince del total:

(Tabla 1. Variables a estudio)

Análisis estadístico

El análisis se realizó combinando los paquetes estadísticos

VARIABLES ERC 2010 (alumnos 5º Grado)	VARIABLES ERC 2015 (alumnos 4º Grado)
Comprueba la seguridad de víctima y reanimador	Comprueba la seguridad de víctima y reanimador
Comprueba el nivel de conciencia	Comprueba el nivel de conciencia
Solicita ayuda	Realiza la apertura de la vía aérea
Realiza la apertura de la vía aérea	Comprueba la respiración mediante la maniobra de ver/oír/sentir manteniendo abierta la vía aérea
Comprueba la respiración mediante la maniobra ver/oír/sentir manteniendo abierta la vía aérea	Solicita ayuda si no respira
Activa el sistema de emergencias si no respira	Activa el sistema de emergencias si no respira
Solicita el DEA	Solicita el DEA
Localiza de forma adecuada el lugar para la realización de masaje cardíaco.	Localiza de forma adecuada el lugar para la realización de masaje cardíaco
Indica el inicio del masaje cardíaco	Indica el inicio del masaje cardíaco
Inicia masaje cardíaco continuo y de calidad.	Inicia masaje cardíaco continuo y de calidad
Procede a reabrir la vía aérea y a realizar dos insuflaciones con la técnica adecuada	Procede a reabrir la vía aérea y a realizar dos insuflaciones con la técnica adecuada
Sincroniza ventilación / compresión 30/2	Sincroniza ventilación / compresión 30/2
Coloca de forma adecuada el DEA a su llegada y sigue las indicaciones acústicas	Coloca de forma adecuada el DEA a su llegada y sigue las indicaciones acústicas
Sincroniza de forma adecuada RCP básica y desfibrilación según indicaciones	Sincroniza de forma adecuada RCP básica y desfibrilación según indicaciones
Mantiene la secuencia hasta la llegada del sistema de emergencias	Mantiene la secuencia hasta la llegada del sistema de emergencias

Tabla 1. Variables estudio.

InfoSat® y SPSS ® 20, en función de las necesidades. Se utilizaron medidas de tendencia central, tablas de frecuencias y posteriormente se realizó un análisis estadístico mediante la Prueba T de Student.

Consentimiento para la participación:

La selección de los alumnos se realizó de forma voluntaria entre todos y cada uno de los estudiantes matriculados en la asignatura bases de la medicina interna II, no existiendo ningún alumno que declinara la participación en el estudio. La selección posterior del grupo de alumnos sometidos a la reevaluación fue aleatoria. Se realizó una comunicación oficial de la realización del presente estudio tanto al Decanato, como a la Dirección del Departamento de Medicina como al Coordinador de la Asignatura de Bases de la Medicina Interna II.

RESULTADOS

La primera gráfica muestra en el eje de abscisas a los 27 alumnos de cuarto que se sometieron a la reevaluación, mientras que en el de ordenadas los puntos que obtuvieron, aceptando como valor máximo 15 y como mínimo 11

Como observamos en la Tabla 2, en el grupo Cuarto 1 (grupo de evaluación inicial tras la formación) constituido por una muestra de 47 alumnos, se obtiene una Media de 13,91 con Desviación Estándar de 0,93. Su valor mínimo fue de 12,00 y el máximo de 15,00. La Mediana resultó 14,00.

Por otro lado, en el grupo Cuarto 2 (grupo de reevaluación), constituido por una muestra de 27, se obtiene una Media de 13,81 con Desviación Estándar 1,36. Su valor mínimo fue 11,00, siendo el máximo 15,00. La Mediana fue de 14,00.

Del valor de la media, que en ambos casos resulta alta y próxima al valor máximo, podemos deducir que los alumnos recordaron de manera satisfactoria, tanto en la evaluación como en la reevaluación, lo aprendido en el curso que se les impartió.

La desviación estándar muestra, sin embargo, un olvido progresivo (de menos del 6% aproximadamente en 2016, al 9% aproximadamente en 2017) pero que resultaba esperable debido al ya nombrado efecto de la Curva del Olvido (Tabla 2).

	CUARTO 1	CUARTO 2
N	47,00	27,00
MEDIA	13,91	13,81
D.E	0,93	1,36
MIN	12,00	11,00
MAX	15,00	15,00
MEDIANA	14,00	14,00

Tabla 2. Medidas de tendencia

Siguiendo con los valores más variables nos encontramos el máximo y el mínimo, que nos indican que el estudio hasta el momento es satisfactorio. Tanto en el momento de la primera evaluación cómo un año después hay alumnos que conocen la información al completo.

Sumado a un valor de 14 en la mediana nos hace ver que los datos no se dispersan de manera inesperada, y que por tanto es una muestra perfectamente estable.

Por lo que respecta al análisis de la T de Student para una media:

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0 (Tabla 3).

VARIABLE	N	MEDIA	DE	LI (95%)	LS (95%)	T	p(bilateral)
CUARTO 1	47	13,91	0,93	13,64	14,19	102,74	< 0,0001
CUARTO 2	27	13,81	1,36	13,28	14,35	52,79	< 0,0001

Tabla 3. Resultados 1.

Tras desechar el 5% de la población extrema, se demuestra que tanto en el momento de la evaluación como en el momento de la reevaluación de 2017 los conocimientos que la muestra central de estudiantes mantiene son muy satisfactorios, pues los resultados se encuentran entre 13,63 y 14,19 en 2016, y entre 13,28 y 14,35 en 2017. No obstante, se puede apreciar que existen estudiantes con mayor nivel de capacitación que otros.

T de Student para muestras apareadas (Tabla 4).

Como se aprecia no existen diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos tras la evaluación de la formación inicial y la reevaluación realizada posteriormente.

Obs (1)	Obs (2)	N	Media (dif)	Media 1	Media 2	DE (dif)	LI 95%	LS 95 %	T	P bilateral
Cuarto 1	Cuarto 2	27	0,30	14,11	13,81	1,51	-0,30	0,90	1,02	0,3187

Tabla 4. Resultados 2.

A pesar de existir una disminución de los conocimientos y habilidades psicomotrices adquiridas, esta disminución no es suficiente como para adquirir significación estadística, lo cual pone de manifiesto que el proceso de enseñanza / aprendizaje para los alumnos del grado de medicina puesto en marcha para la formación en soporte vital básico es de un nivel elevado de calidad a tenor de los resultados, no siendo necesaria la instauración de un programa de reciclaje entre seis y nueve meses como establecen las recomendaciones actuales (17) (18).

En cuanto a los alumnos de quinto obtenemos los siguientes resultados.

En la gráfica 2, vemos a los alumnos representados en el eje de abscisas y sus resultados en el de ordenadas, siendo el valor mínimo el 8 y el máximo el 15.

La Media vuelve a obtener valores que hablan de un buen mantenimiento de los conocimientos que los alumnos obtuvieron en el curso de SVB, tanto en la evaluación inicial de 2015 (media de 13,80), como en la revaluación que se realizó en mayo de 2017 (media de 13,18). Sin embargo, la desviación estándar tanto en un grupo como en otro resulta superior, (1,27 en el grupo QUINTO 1 y 2,06 en el grupo QUINTO 2), lo cual pone de manifiesto un olvido de la materia algo más acentuado.

El número mínimo de puntos que se obtuvo en la evaluación inicial fue de 10, lo cual habla de que ya en aquella evaluación los alumnos habían retenido menos la información que en el caso de los alumnos de cuarto, algo que se acentúa en el grupo que realizó la evaluación en 2017, en el que el menor número de puntos obtenidos fue de 8.

Por otro lado, el máximo número de puntos que se obtuvo fue de 15 por parte de los dos grupos, lo que pone de manifiesto que sigue habiendo alumnos que recuerdan lo aprendido de manera excepcional. La Mediana vuelve a indicarnos que los datos son estables (Tabla 5).

	QUINTO 1	QUINTO 2
N	45	22
MEDIA	13,80	13,18
D.E.	1,27	2,06
MIN	10,00	8,00
MÁX	15,00	15,00
MEDIANA	14,00	14,00

Tabla 5.

Por lo que respecta al análisis de la T de Student para una media:

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0 (Tabla 6).

T de Student para muestras apareadas (Tabla 7 - ver página siguiente).

VARIABLE	N	MEDIA	DE	LI (95)	LS (95)	T	P (bilateral)
QUINTO 1	45	13,80	1,27	13,42	14,18	72,77	< 0,0001
QUINTO 2	22	13,18	2,06	12,27	14,10	29,99	< 0,0001

Tabla 6. Resultados 1

Nuevamente no existen diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos tras la evaluación de la formación inicial y la reevaluación realizada posteriormente, aunque se está muy próximo a conseguir dicha significación (probablemente hubiera bastado con un aumento en el número de sujetos estudiados).

Podemos por lo tanto concluir que, el 95% del número de alumnos que realizaron la evaluación inicial en 2015 consiguió obtener entre 13,42 y 14,18 puntos. Mientras que dos años más tarde, el 95% de estudiantes consiguió entre 12,27 y 14,10, resultados más bajos que los obtenidos por el grupo CUARTO2, que realizó la segunda evaluación tan sólo un año después del curso y de la evaluación inicial.

Se demuestra así que la Curva del Olvido es más intensa cuanto más tiempo ha transcurrido desde el último reciclaje en SVB.

DISCUSIÓN

Actualmente, la PCR es una de las causas más frecuentes de muerte, tanto a nivel mundial como en nuestro país. De esta afirmación deriva la idea de considerarla como un problema grave de salud pública por la OMS, hecho que justifica la necesidad de implementar medidas que aumenten la supervivencia una vez que ésta se padece (4-5-6).

Tan sólo la formación en Soporte Vital Básico y Avanzado (SVB – SVA) ha demostrado aumentar dicha supervivencia. De esta manera, y teniendo en cuenta que la gran mayoría de PCR ocurren en el espacio extrahospitalario, se deduce la necesidad de formar a la población general en SVB (7-8).

Surge entonces la primera pregunta a resolver; ¿Cuánto se recuerda, y durante cuánto tiempo una vez formada en SVB?

Esta pregunta es muy importante y mucho más teniendo en cuenta que la mayor parte de los estudios se realizan con población general no sanitaria entre la que se encuentran los alumnos de medicina, sin embargo todos podemos entender que a pesar de que los alumnos en su período formativo no son considerados como "población sanitaria" tampoco pueden ser considerados de forma estricta como "población general".

Con este estudio se pretendió conocer cómo afecta el efecto de La Curva del Olvido (o pérdida de conocimientos y habilidades retenidos con el paso del tiempo) a estudiantes de Medicina, personal aún no sanitario, que pasaron por un proceso de formación de 2 horas de teoría, 4 de práctica, reciclaje, formación online y una evaluación final, al año y a los dos años desde esta última (9-10-11).

Esta Curva del Olvido podría afectar, no sólo a la calidad del SVB que realizarían los alumnos en una situación de PCR, sino también a la confianza en sí mismos, como ya se demostró en varios estudios de Reino Unido, en los que se observó que más del 60% de estudiantes de cuarto de medicina no tenían suficiente confianza como para actuar en dichas situaciones, y además más del 35% de estudiantes de primero no querían participar en este tipo de prácticas debido a que no se sentían suficientemente preparados (3-12-13).

De ahí la importancia, no sólo de intentar establecer la mejor formación posible, como ya se ha estudiado en varios países que pretenden comparar el aprendizaje mediante instructores o simuladores, alumnos instruidos para ser Monitores de SVB o profesional sanitario, el aprendizaje del masaje cardíaco en bloque o

Obs (1)	Obs (2)	N	Media (dif)	Media 1	Media 2	DE (dif)	LI 95 %	LS 95 %	T	p bilateral
Quinto 1	Quinto 2	22	0,86	14,05	13,18	2,34	-0,17	1,90	1,73	0,0976

Tabla 7. Resultados 2

por pasos, o la importancia del número de alumnos que componen cada grupo de trabajo, sino también del reciclaje, que supone la única herramienta de que disponemos para disminuir la curva del olvido (14-15).

CONCLUSIONES

Conclusión principal

A pesar de existir una disminución de los conocimientos y habilidades relacionados con la práctica del soporte vital al año de recibir la formación específica en ambos grupos, no existen diferencias estadísticamente significativas para los sujetos de nuestro grupo que obliguen a establecer programas de reciclaje entre seis y nueve meses como establecen las recomendaciones actuales.

A la luz de nuestro estudio, recomendamos el desarrollo de programas específicos de reciclaje en períodos de tiempo superiores a los doce meses después de recibir la formación inicial.

Conclusiones secundarias

No parece existir diferencias entre los niveles de aprendizaje obtenidos utilizando los programas formativos establecidos por el ERC 2010 y por el ERC 2015 aunque para conseguir resultados que nos permitan establecer conclusiones definitivas, tendremos que profundizar en el estudio comparativo.

Son múltiples los factores que influyen en el desarrollo de la Curva del Olvido, siendo el factor temporal el más importante. Aunque en nuestro estudio no hemos encontrado significación estadística, sí que existe una tendencia a establecer una relación directamente proporcional entre la Curva del Olvido y el tiempo trascurrido desde la formación inicial.

Los alumnos de medicina son un grupo poblacional específico y peculiar, lo cual hace que no se puede englobar dentro de las poblaciones estudiadas hasta el momento en relación con la formación en SVB, motivo por lo cual sería necesario el desarrollo de Programas Formativas Específicos para los estudiantes del Grado de Medicina, incluyendo los sistemas de reciclaje.

A pesar de lo anterior y en función de los resultados obtenidos de nuestro estudio, el sistema formativo empleado para el desarrollo cognitivo, psicomotriz y conductual de los alumnos del Grado de Medicina de la UGR en relación con la formación en SVB, es de un nivel elevado de efectividad, obteniéndose unos parámetros de calidad que garantizan la puesta en práctica de lo aprendido.

AGRADECIMIENTOS:

A todos y cada uno de los estudiantes del cuarto y quinto curso de Grado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

REFERENCIAS BIBILIOGRÁFICAS

1. López Mesa J B, Perales Rodríguez de Viguri N, Ruano Marco M, Tormo Calandín C, Tamayo Lomas L. Manual para la enseñanza de monitores en soporte vital básico y desfibrilación externa semiautomática. Vol.1. 3ª edición. Madrid: Elsevier Masson; 2008.

2. Lockey Andrew, Balance John, et al. Soporte Vital Avanzado. Manual SVA. Vol.1. 1ª edición. Nukerke, Bélgica; European Resuscitation Council; 2010.

3. Lami M, Nair P, Gadhvi K. Improving basic life support training for medical students. En Adv Med Educ Pract. 2016 Apr 9;7:241-2.

4. Min MK, Yeom SR, Ryu JH, Kim YI, Park MR, Han SK, et al. Comparison between an instructor-led course and training using a voice advisory manikin in initial cardiopulmonary resuscitation skill acquisition. Clin Exp Emerg Med. 2016 Sep 30;3(3):158-164.

5. Cho Y, Je S, Yoon YS, Roh HR, Chang C, Kang H, et al. The effect of peer-group size on the delivery of feedback in basic life supportre fresher training: a cluster randomized controlled trial. BMC Med Educ. 2016 Jul 4;16:167.

6. Mahling M, Münch A, Schenk S, Volkert S, Rein A, Teichner U, et al. Basic life support is effectively taught in groups of three, five and eight medical students: a prospective, randomized study. BMC Med Educ. 2014 Sep 6;14:185.

7. Grove EL, Løfgren B. Successful implementation of the European Resuscitation Council basic life support course as mandatory peer-led training for medical students. Eur J Emerg Med. 2014 Apr;21(2):142-4.

8. Freund Y, Philippon AL, Bokobza J, Carreira S, Riou B, Duguet A. A 1-h simulation-based course on basic life support durably enhances confidence among medical students. Eur J Emerg Med. 2013 Apr;20(2):145-6.

9. Harvey PR, Higenbottam CV, Owen A, Hulme J, Bion JF. Peer-led training and assessment in basic life support for healthcare students: synthesis of literature review and fifteen years practical experience. Resuscitation.2012 Jul;83(7):894-9.

10. Fujiwara T, Nishimura M, Honda R, Nishiyama T, Nomoto M,Kobayashi N, et al. Comparisonof peer-led versus professional-led training in basic life support for medical students. Adv Med Educ Pract. 2011 Jul 26;2:187-91.

11. Papaioannou A, Fraidakis O, Volakakis N, Stefanakis G, Bimpaki E, Pagkalos J. Basic life support skill retention by medical students: a comparison of two teaching curricula. Emerg Med J. 2010 Oct;27(10):762-5.

12. Altintaş KH, Yildiz AN, Aslan D, Ozvariş SB, Bilir N. First aid and basic life support training for first year medical students. Eur J Emerg Med. 2009 Dec;16(6):336-8.

13. Durak HI, Certuğ A, Calişkan A, van Dalen J. Basic life support skills training in a first year medical curriculum: six years' experience with two cognitive-constructivist designs. Med Teach. 2006 Mar;28(2):e49-58

14. Jenko M, Frangez M, Manohin A. Four-stage teaching technique and chest compression performance of medical students compared to conventional technique. Croat Med J. 2012. Oct;53(5):486-95.

15. Nolan JP, Soarb J, Zideman DA. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2010. Resuscitation 81 (2010) 1219–1276

16. Monsieurs KG, Nolan JP, Bossaert L. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. Resuscitation 95 (2015) 1–80

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102: (802): 145-150

Enviado: 26-11-2017
Revisado: 28-11-2017
Aceptado: 16-12-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.or03

Caracterización de Agarosas Tipo I y Tipo VII para su uso en Ingeniería Tisular

Type I and type VII agarose characterization for use in tissue engineering

Quintero-Campos P[1], Campos F[1], Carriel V[1], Alaminos M[1], Sánchez-Quevedo MC[1], Martín-Piedra MA[1]

[1]Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada (España) e Instituto de Investigación Biosanitaria ibs Granada

Resumen

Objetivos: El objetivo del presente trabajo es el desarrollo de un nuevo protocolo para la inclusión de geles de agarosa en parafina que permita su estudio en histología, y la posterior caracterización de dos tipos distintos de agarosa, Tipo I y Tipo VII, para su uso en Ingeniería Tisular.

Métodos: Se evaluaron distintos protocolos que permitiesen un correcto procesamiento de los geles de agarosa permitiendo obtener cortes de dichos geles incluidos en parafina. Una vez optimizado el protocolo, se realizó una caracterización de las agarosas tipo I y VII para su utilización en Ingeniería Tisular. Para ello se obtuvieron geles de agarosa de ambos tipos a concentraciones del 2% y 2.5%, y en cuyo interior había condrocitos. Se evaluó la permeabilidad de la membrana celular mediante la medida por espectrofotometría del ADN liberado al medio, el tamaño celular de los condrocitos cultivados y el estado celular mediante inmunohistoquímica frente a PCNA y Vimentina. También se realizó un estudio sobre la resistencia a la compresión que presentan los distintos geles con el paso del tiempo.

Resultados: Tres de los protocolos propuestos hacían posible el procesamiento de los geles y permitieron la caracterización de los distintos tipos de agarosa. En este caso, el estudio de las agarosas tipo I y VII ha demostrado que los condrocitos crecen correctamente en ambos tipos de agarosas, pero que la tipo VII favorece el desarrollo de los mismos frente a la Tipo I. Además, la agarosa pierde elasticidad con el paso de los días soportando a la vez menos fuerza de compresión.

Conclusiones: El Protocolo propuesto para el procesamiento y posterior inclusión de geles de agarosa en parafina en este trabajo permite realizar histología en los mismos, y ha permitido confirmar que la agarosa tipo VII favorece el desarrollo y supervivencia celular.

Palabras clave: agarosa, gel, condrocito, Ingeniería Tisular.

Abstract

Purpose: The objective of the present work is the development of a new protocol for the inclusion of paraffin-embedded agarose gels to allow their study in histology and the subsequent characterization of two different types of agarose, Type I and Type VII, for their use in Tissue Engineering.

Method: Different protocols were evaluated for a correct processing of the agarose gels allowing to obtain cuts of paraffin-embedded agarose gels. Once the protocol was optimized, a characterization of type I and VII agarose was performed for their use in tissue engineering. For this purpose, agarose gels of both types were obtained at concentrations of 2% and 2.5%, and in which chondrocytes were present. The permeability of the nuclear membrane was measured by spectrophotometry of the DNA released, the cell size of the cultured chondrocytes and the cellular state by immunohistochemistry against PCNA and Vimentin. A study on the compressive strength of different gels over time was also performed.

Results: Three of the proposed protocols allowed the processing of the gels and allowed the characterization of the different types of agarose. In this case, the study of the type I and VII agarose has shown that chondrocytes grow correctly in both types of agarose, but type VII favors the development of the same against Type I. In addition, the agarose loses elasticity with the day pass while supporting less compressive force.

Conclusions: The proposed protocol for the processing and subsequent inclusion of paraffin-agarose gels in this work allows the histology to be carried out in the same ones, and has allowed to confirm that type VII agarose favors the development and cellular survival.

Keywords: agarose, gel, chondrocyte, Tissue Engineering

ACTUALIDAD MÉDICA
www.actualidadmedica.es
© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Pedro Quintero Campos
e-mail: pedro.quintero.campos@gmail.com
Teléfono: 664619527
Dirección: Departamento de Histología – Facultad de Medicina – Universidad de Granada.

INTRODUCCIÓN

La Ingeniería Tisular es una ciencia multidisciplinaria cuyo objetivo es el desarrollo de estrategias para la generación de órganos y tejidos completamente funcionales; estrategias que se basan en la interacción de tres componentes fundamentales como son: células, factores de crecimiento y andamios (1).

La función del andamio es servir como soporte estructural y guía para la formación del nuevo tejido, proporcionando un ambiente en tres dimensiones, que facilite la adherencia, migración, proliferación y organización espacial tridimensional de las células, y por tanto juega un papel determinante en el crecimiento y diferenciación celular (2). Alguno de los andamios utilizados en Ingeniería Tisular son colágeno, fibrina y distintos tipos de polímeros naturales, ya que presentan propiedades similares a las de la matriz extracelular nativa (3). Estos biomateriales pueden extraerse de plantas, animales, algas o pueden ser sintetizados por microorganismos (4).

La agarosa es un polisacárido procedente de las algas marinas que tiene la capacidad de formar geles térmicamente reversibles (5). Estructuralmente es un polímero lineal que consiste en unidades alternas de D-galactosa y 3,6-anhidro-L-galactosa. Este polisacárido es soluble en agua a temperaturas por encima de 65ºC y, dependiendo del grado de sustituciones de hidroxietilo en sus cadenas laterales, gelifica en un rango de temperaturas comprendido entre 17-40ºC (6), dando lugar a distintos tipos de agarosas comerciales. Una vez que los geles de agarosa son estables no se vuelven a hacer líquidos hasta alcanzar temperaturas mayores a 65ºC. Esta característica en la que las temperaturas de fusión y gelificación son distintas recibe el nombre de histéresis térmica (7).

Entre sus múltiples usos destaca su utilización para la obtención de geles para el cultivo de células en Ingeniería Tisular (8). La estructura física de dichos geles puede ser controlada usando distintas concentraciones de agarosa, lo que da lugar a diversos tamaños de poro. Los grandes poros y la baja rigidez mecánica de los geles a bajas concentraciones de agarosa pueden permitir la migración y proliferación de células (9). Entre sus aplicaciones en Ingeniería Tisular destaca su uso conjugado con fibrina para la obtención de hidrogeles de fibrina-agarosa que permiten la elaboración de tejidos artificiales como piel (10), córnea (11), mucosa oral (12) y nervio (13). Por otro lado, los geles de agarosa suelen también utilizarse, en Ingeniería Tisular, para la reparación del cartílago (14), ya que favorecen el crecimiento y la diferenciación de los condrocitos (15).

Uno de los procedimientos más usados en histología es la inclusión en parafina de las muestras, ya que permite su conservación sin la necesidad de poseer un equipo que las mantenga (16). Sin embargo, las características de la agarosa, sobre todo su baja temperatura de fusión, hace muy difícil el procesamiento de los constructos fabricados con este material para su estudio en histología. Por ello se hace necesario establecer una nueva metodología que permita el procesamiento de los geles de agarosa para su estudio. El objetivo del presente trabajo consiste en desarrollar un nuevo protocolo para la inclusión de geles de agarosa en parafina y, por otro lado, la caracterización de dos tipos distintos de agarosa, Tipo I y Tipo VII, para su uso en Ingeniería Tisular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Protocolo Procesamiento de Geles de Agarosa

Elaboración de los geles

Para la elaboración de los geles se partió de agarosa tipo VII al 2% (Sigma – Aldrich, Steinheim, Alemania) preparada en Solución Tamponada con Fosfato (PBS) (Sigma-Aldrich). La agarosa fue calentada hasta hacerse líquida y se distribuyó en placas de Petri de 55mm. Una vez gelificado, se obtuvieron punchs de 8 mm del gel.

Evaluación de los protocolos

Una vez obtenidos los geles, fueron procesados de acuerdo a cuatro protocolos, basados en la metodología habitual de procesamiento para inclusión en parafina (17), y que se diferencian en el tiempo de deshidratación e inclusión (Tabla 1).

		T_1	T_2	T_3	T_4
Fijación	FORMALDEHÍDO 3.7%	24 horas	24 horas	24 horas	24 horas
Deshidratación	ALCOHOL 50%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 70 %	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 70%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 95%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 95%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 95%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 100%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 100%	10 min	20 min	25 min	30 min
	ALCOHOL 100%	10 min	20 min	25 min	30 min
	XILOL	10 min	20 min	20 min	20 min
	XILOL	10 min	20 min	20 min	20 min
Inclusión	PARAFINA	10 min	20 min	25 min	30 min
	PARAFINA	10 min	20 min	25 min	30 min

Tabla 1. Protocolos para el Procesamiento de Geles de Agarosa

Tras la inclusión en parafina, se obtuvieron cortes de 5 µm que fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina para poder determinar cuál era el procedimiento idóneo.

Caracterización de Agarosa Tipo I y Tipo VII

Cultivo de Condrocitos

Los condrocitos se obtuvieron a partir de biopsias de tejido cartilaginoso de rata. Las muestras fueron fragmentadas mecánicamente en pequeños trozos e incubadas a 37.5ºC en una solución estéril de colagenasa tipo I de *Clostridium hystoliticum* (Gibco BRL Life Technologies Ref. 17100-017, Karlsruhe, Alemania) al 2% en medio de cultivo DMEM durante 7 horas. Posteriormente los condrocitos fueron aislados mediante centrifugación y cultivados en medio de expansión para condrocitos [DMEM-F12 (GIBCO) suplementado con Suero Fetal Bovino al 10% (FBS, Sigma-Aldrich), Solución Antibiótica al 1% (100 U/ml de penicilina G, 100 µg/ml Estreptomicina y 0,25 µg/ml de anfotericina B, Sigma – Aldrich, Steinheim, Alemania) y 2mM de L-glutamina (Sigma-Aldrich, Alemania)] a 37.5ºC y 5% de dióxido de carbono. El medio de cultivo se renovó cada 3 días y los condrocitos se expandieron hasta el pase VI para su utilización en la elaboración de los constructos.

Fabricación de los geles

Los geles de agarosa se elaboraron utilizando dos tipos distintos: Agarosa Tipo I y Tipo VII (Sigma-Aldrich). La agarosa Tipo I es un tipo de agarosa comercial cuya temperatura de gelificación está comprendida entre los 34.5-37.5ºC, mientras que la agarosa Tipo VII o Agarosa Low Gelling Temperature, se caracteriza por tener una temperatura de gelificación que oscila entre los 24-28ºC. En Ingeniería Tisular la agarosa normalmente utilizada para la elaboración de constructos es de tipo VII ya que su baja temperatura de gelificación permite que las células no disminuyan su viabilidad. En este caso, para caracterizar ambos tipos de agarosa y determinar la viabilidad celular en cada una de las condiciones anteriormente citadas, se fabricaron geles a dos concentraciones, 2% y 2.5%, partiendo de agarosa estéril al 4% preparada en Solución Tamponada con Fosfato (PBS) (Sigma-Aldrich). Para ello se prepararon 3 mL de mezcla para cada condición que contenía agarosa estéril líquida al 4%, y condrocitos en medio condrogénico [DMEM-F12 (GIBCO) suplementado con Solución Antibiótica al 0.1%, 2mM de Piruvato de sodio (GIBCO), ITS al 0.1%, 4 µM de Ácido ascórbico (Sigma – Aldrich), 10 ng/mL de TGF-β1, 10 µM de Dexametasona (Sigma – Aldrich) y 0.35 mM de L-Prolina (Sigma-Aldrich)]. Tras homogeneizar cuidadosamente, esta mezcla se distribuyó en placas de 12 pocillos (3 pocillos por condición) en alícuotas de 1 mL que contenían 100.000

células. Una vez gelificado, se le añadió medio condrogénico para favorecer el desarrollo de los condrocitos y este se renovó cada 2 días. Se realizaron 3 placas exactamente iguales para realizar los estudios a los 2, 8 y 16 días. Las placas se mantuvieron en un ambiente de 37.5ºC y 5% de CO_2.

Liberación de ADN

Una forma de estudiar la muerte celular es mediante la evaluación de la permeabilidad de la membrana celular. El ADN liberado se cuantificó en un espectrofotómetro UV-Vis NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific) por espectrofotometría a λ = 260-280 nm, siguiendo el método descrito previamente por Rodríguez-Arco (18). El sobrenadante del medio de cultivo se colocó en tubos Eppendorf para la cuantificación de ADN. Para este análisis se utilizaron tres geles de cada modalidad y se registraron tres determinaciones para cada uno (n = 9 para cada condición). Como control negativo las células fueron tratadas con Triton X-100 al 2% durante 10 minutos, introduciéndose una liberación elevada de ADN debido al daño irreversible en las membranas plasmáticas y nucleares. Se utilizó agua destilada y medio de cultivo como controles para la técnica de ensayo.

Evaluación Histológica

Para los análisis histológicos e inmunohistoquímicos, los geles fueron procesados utilizando el Protocolo T_3 descrito con anterioridad. Una vez que los geles fueron incluidos en parafina, se obtuvieron secciones transversales de 5 µm de cada uno de ellos. Los cortes se tiñeron con azul Alcian y se contrastaron con Nuclean Fast Red (19) para su observación al microscopio y obtener el área celular.

Para estudiar el comportamiento celular, se analizaron diferentes procesos celulares mediante técnicas inmunohistoquímicas (13). Se utilizó el antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA) para identificar las células proliferantes (20). También, se utilizó el anticuerpo frente a la Vimentina para identificar aquellas células que mantenían la integridad física (21). Para cada reacción inmunohistoquímica, se utilizaron controles para asegurar el correcto funcionamiento de los anticuerpos. Todos los procedimientos se realizaron bajo las mismas condiciones para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

Estudios de compresión

Para realizar los estudios de compresión de los distintos geles se utilizó un sistema electromecánico para ensayos de materiales Instron, Modelo 3345-53327. Se utilizaron geles sin células de ambos tipos de agarosas a concentraciones del 2% y 2.5% para realizar las medidas. Para obtener resultados fiables, la compresión se realizó suavemente de modo que la fuerza normal que actuaba sobre la muestra era siempre inferior a 0.05 N y la separación placa-placa era de 3 mm. El módulo de Young (E) se calculó como la tangente de la porción lineal inicial de la curva esfuerzo-deformación de cada prueba experimental, mientras que los valores del esfuerzo a rotura (σ) y de la deformación a rotura (ε) se determinaron mediante la selección del punto de la curva de esfuerzo-deformación donde se produjo la fractura.

Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos se analizaron, para la presencia de valores atípicos, usando el test de Grubb (método ESD). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el programa informático Statgraphics Centurion XVI v.16.1.03 mediante ANOVA Simple. Seguidamente, se realizó un test de Tukey para la comparación entre grupos significativamente diferentes, siendo considerados estadísticamente diferentes cuando $p<0.05$.

RESULTADOS

Protocolo Procesamiento de Geles de Agarosa

Los geles de agarosa procesados mediante los protocolos T_2, T_3 y T_4 nos permitieron obtener cortes de los mismos tras la inclusión en parafina, a diferencia de los geles sometidos al protocolo T_1. En estos últimos, los geles incluidos en parafina presentaron cierta dureza que impedía el corte de los mismos.

Con microscopía óptica se observó una estructura fibrilar tanto en T_2 como en T_3, y que estaba ausente en T_4. (Figura 1)

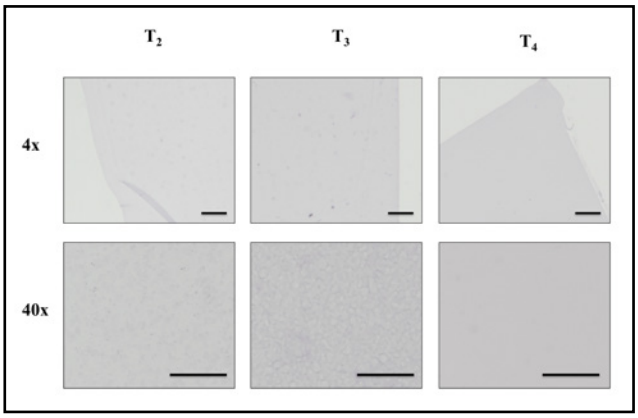


Figura 1. Imágenes obtenidas por microscopía de los cortes de los geles a los que se les realizó los protocolos de procesamiento T2, T3 y T4 a los aumentos 4x y 40x.

Caracterización de Agarosa Tipo I y Tipo VII

Liberación de ADN

El análisis por espectrofotometría de la liberación de ADN (Figura 2), como resultado del daño irreversible en la membrana celular, pone de relieve que la liberación de ADN es mayor en los geles de agarosa Tipo I en relación con la agarosa Tipo VII al 2% y 2.5%, respectivamente, a los 2, 8 y 16 días de cultivo. Mediante el tratamiento estadístico de los resultados se observó que existía una diferencia estadísticamente significativa de la liberación de ADN entre las distintas condiciones de cultivo (Tipo de agarosa y concentración) con un nivel del 95.0% de confianza. Para los días 2 y 8, mediante el Test de Tuckey, se distinguieron dos grupos homogéneos correspondientes a cada tipo de agarosa independientemente de la concentración utilizada. Mientras que para el día 16 dicho test estableció dos grupos homogéneos, uno formado por la agarosa tipo I y la condición agarosa tipo VII al 2.5%, y otro por la condición agarosa tipo VII al 2%.

Evaluación Histológica

El análisis del área celular, en cada una de las condiciones y en los distintos tiempos, puso de relieve en el día 2 diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño y las condiciones de cultivo, identificándose dos grupos (Figura 4, A), uno formado por la agarosa Tipo I al 2% donde el tamaño es superior, y otro grupo formado por las condiciones restantes. En el día 8 (Figura 4, B) no existían diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño y las condiciones de cultivo, identificándose un solo grupo homogéneo. Mientras que en el día 16 (Figura 4, C) sí existían diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño y las condiciones de cultivo, identificándose tres grupos homogéneos. El test de Tuckey estableció que la agarosa tipo VII al 2% formaba parte tanto del grupo "Agarosa tipo VII al 2.5%" como del grupo "Agarosa tipo I al 2%." A

Los resultados obtenidos de los análisis inmunohistoquímicos resultaron ser positivos tanto para PCNA (Figura 3, A) como Vimentina (Figura 3, B).

Estudios de compresión

Tras la realización de los estudios de compresión se obtuvo el módulo de Young o módulo de elasticidad y la Fuerza en el punto de rotura para cada una de las condiciones (Tabla 2). Como se puede observar el módulo de Young es más pequeño en los geles

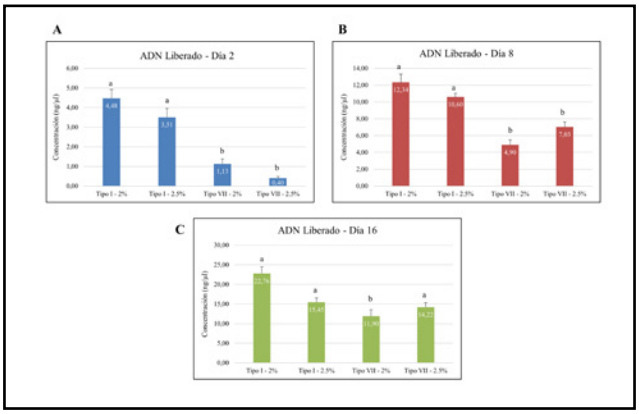


Figura 2. Representación gráfica del ensayo de liberación de ADN. Liberación de ADN Día 2 (A), Día 8 (B) y Día 16 (C). Quedan representados los niveles de liberación de ADN (ng/µL) respecto a las distintas condiciones de cultivo. Los gráficos representan la media ± SEM (n=9). Las letras simbolizan grupos con diferencias estadísticamente significativas para cada Tratamiento (ANOVA a una vía, p < 0,05). El control negativo poseía un valor medio de 246.33 ng/µL.

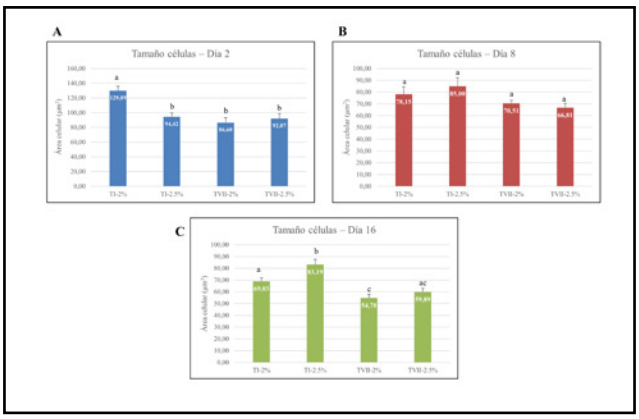


Figura 4. Representación gráfica del ensayo de tamaño celular. Día 2 (D), Día 8 (E) y Día 16 (F) quedan representados el área celular (µm2) respecto a las distintas condiciones de cultivo. Los gráficos representan la media ± SEM (n=10). Las letras simbolizan grupos con diferencias estadísticamente significativas para cada Tratamiento (ANOVA a una vía, p < 0,05).

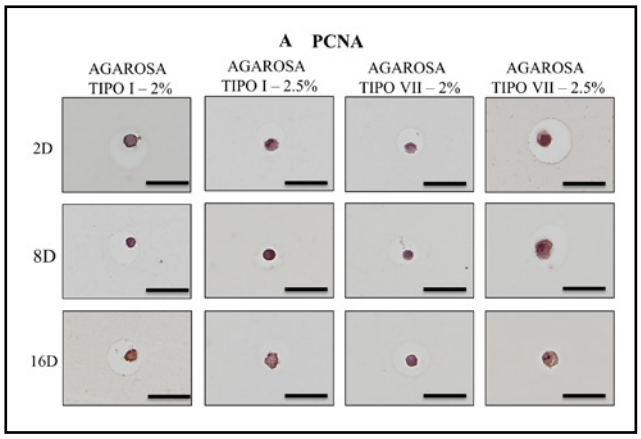


Figura 3. Resultados Inmunohistoquímica PCNA (A) y Vimentina (B).

del día 2 que en los del día 16, lo que indica que los geles con el paso del tiempo van perdiendo elasticidad y volviéndose más rígidos, además alcanzan el punto de rotura a una compresión

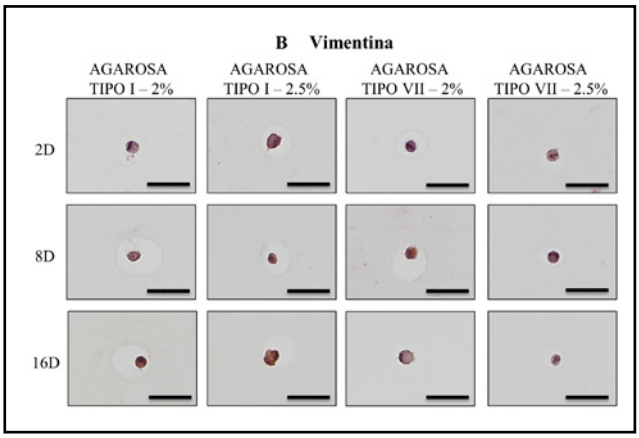


Figura 3. Resultados Inmunohistoquímica PCNA (A) y Vimentina (B).

menor que sus homólogos en días anteriores. Es necesario destacar, que los geles de agarosa Tipo I – 2.5% y Tipo VII – 2% presentan comportamientos similares. La agarosa Tipo I – 2% por su parte presenta mayor elasticidad pero resiste menos fuerza que las otras condiciones, mientras que al Tipo VII – 2.5% le ocurre justamente lo contrario, tiene un menor módulo de elasticidad pero resiste más fuerza.

Tras el análisis estadístico de los datos se observó que existían diferencias estadísticamente significativas entre las distintas condiciones. Mediante el test de Tuckey, se identificaron tres grupos homogéneos donde la condición Tipo I – 2.5% y la Tipo VII – 2% formaban parte del mismo grupo. Asimismo existían diferencias estadísticamente significativas entre el día 2 y 16 para cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN

Establecer un protocolo que permita el procesamiento y la posterior inclusión de geles de agarosa en parafina contribuye al estudio de este tipo de geles, y por tanto, a su desarrollo y a la posibilidad de que en un futuro se extienda el uso de este biomaterial en biomedicina. Los resultados obtenidos en este trabajo demostraron que los protocolos T_2, T_3 y T_4 permitían obtener cortes al micrótomo y posteriormente realizar análisis histológicos. En este caso se decidió utilizar T_3 porque sus tiempos eran intermedios con respecto a los otros dos protocolos, dándonos un margen de 5 minutos en cada uno de los pasos de deshidratación e inclusión. Además como se puede observar en la Figura 1, en los cortes obtenidos por T_3 se distingue la estructura fibrilar de los geles de agarosa (22), lo que indica que el gel sigue manteniendo su estructura tras el procesamiento.

En cuanto a la caracterización de los distintos tipos de agarosa, los estudios de integridad de la membrana celular, por la medida de la liberación del ADN al medio, mostraron que las células cultivadas en agarosa tipo VII liberan menor cantidad de ADN que las cultivadas en agarosa tipo I. Esto revela que las células cultivadas en agarosa tipo VII presentan mayor viabilidad que las cultivadas en agarosa tipo I. Además, existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos tipos de agarosas, mientras que la concentración de agarosa parece no afectar en gran medida a la viabilidad celular. De manera que podemos establecer que la viabilidad de los condrocitos se ve afectada principalmente por el tipo de agarosa utilizada para su cultivo. Esto se puede deber, principalmente, al hecho de que a la hora de elaborar el constructo la agarosa tipo I necesita una temperatura algo mayor a los 35ºC para mantenerse líquida y poder obtener el gel con las células en su interior, lo que puede afectar a la integridad de la célula y puede favorecer a una muerte prematura de la misma.

Por otro lado, el tamaño celular que presentan los condrocitos se ve más afectado con el paso del tiempo que con el tipo de agarosa

		Tipo I – 2%*	Tipo I – 2.5%**	Tipo VII – 2%**	Tipo VII – 2.5%***
Día 2	Punto Rotura (N)	0.4648 ± 0.0584	1.7115 ± 0.2400	1.6145 ± 0.4045	3.1675 ± 0.4739
	σ (mm)	0.0009 ± 0.0001	0.0034 ± 0.0005	0.0032 ± 0.0008	0.0063 ± 0.0009
	ε (%)	31.264 ± 3.971	24.956 ± 3.402	28.977 ± 5.816	29.556 ± 7.716
	E (MPa)	0.0059 ± 0.0001	0.0270 ± 0.0056	0.0225 ± 0.0073	0.0388 ± 0.0094

		Tipo I – 2%*	Tipo I – 2.5%**	Tipo VII – 2%**	Tipo VII – 2.5%***
Día 16	Punto Rotura (N)	0.3571 ± 0.1054	1.0469 ± 0.1441	1.4060 ± 0.3246	1.9728 ± 0.2545
	σ (mm)	0.0013 ± 0.0002	0.0021 ± 0.0003	0.0029 ± 0.0007	0.0040 ± 0.0005
	ε (%)	34.140 ± 2.715	41.442 ± 3.507	49.782 ± 3.791	44.253 ± 1.742
	E (MPa)	0.0720 ± 0.0103	0.0992 ± 0.0110	0.1065 ± 0.0248	0.1731 ± 0.0266

Tabla 2. Resultados obtenidos de las pruebas de compresión realizadas. Se representan la media ± Desviación Estándar (n=10) del Punto de Rotura, esfuerzo a rotura (σ), deformación a rotura (ε) y el módulo de Young (E). Las asteriscos (*) simbolizan grupos con diferencias estadísticamente significativas para cada condición (ANOVA a una vía, p < 0,05).

y la concentración utilizada, aunque aparezcan pequeñas diferencias en días más tempranos. Se puede observar que en el día 8 de cultivo todos los condrocitos presentan aproximadamente un tamaño similar independientemente de la condición de cultivo. Es en el día 16 cuando ya aparecen más diferencias, las cuales se pueden deber principalmente al tiempo en cultivo y a la degradación que va sufriendo la agarosa, la cual se va deshidratando, lo que explicaría la disminución del tamaño celular. Por lo tanto, el tamaño celular no se ve afectado por la condición de cultivo, sin embargo, la degradación que sufre la agarosa en el tiempo hace que disminuya el tamaño celular y que aparezcan diferencias en el mismo.

Por otra parte, el resultado de los análisis inmunohistoquímicos realizados pone de relieve que los condrocitos son viables y que presentan una estructura adecuada durante el tiempo de estudio, independientemente del tipo de agarosa y la concentración utilizada, lo que deja claro que la agarosa favorece el crecimiento de los condrocitos en cultivo.

En cuanto al estudio de compresión de los Geles, ha demostrado que el paso del tiempo hace que el módulo de Young o módulo de elasticidad de los geles aumente, lo que se traduce en un aumento de la rigidez. Este aumento de la rigidez hace que los geles sean más frágiles y disminuyan su resistencia a la compresión. Este efecto se puede explicar por la degradación que sufre la agarosa con el paso del tiempo (23). Por otro lado, los geles de agarosa tipo I presentan menor resistencia a la compresión que los geles de agarosa tipo VII a la misma concentración. Asimismo, los geles de agarosa a concentraciones del 2% presentan menor resistencia a la compresión que los geles a una concentración del 2.5%. Sin embargo, es importante destacar que el estudio pone de relieve que la agarosa tipo I al 2.5% presenta un comportamiento reológico similar a la tipo VII al 2%. En este caso, sería importante tener en cuenta las características biomecánicas del tejido humano que se quiere obtener por Ingeniería Tisular.

CONCLUSIÓN

El Protocolo propuesto para el procesamiento y posterior inclusión de geles de agarosa en parafina en este trabajo permite realizar el análisis histológico de los mismos, haciendo posible en este caso la caracterización de la agarosa tipo I y tipo VII.

En el presente trabajo se ha podido comprobar que los condrocitos crecen en ambos tipos de agarosa. Sin embargo, se ha podido observar que la agarosa tipo VII favorece el desarrollo y supervivencia celular durante el tiempo de estudio frente a la agarosa tipo I. Las investigaciones realizadas en este campo permitirán, por tanto, el abrir nuevas vías de trabajo en la regeneración de cartílago.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a todos los integrantes del departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada por permitir la realización de este estudio y por el apoyo recibido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nerem RM, Sambanis A. Tissue Engineering: From Biology to Biological Substitutes. Tissue Eng. 1995;1(1):3–13.
2. O'Brien FJ. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. Mater Today. 2011;14(3):88–95.
3. Patel H, Bonde M, Srinivasan G. Biomedical Applications of Hydrogels Handbook. Ottenbrite RM, Park K, Okano T, editors. Vol. 25, Trends Biomater. Artif. Organs. New York, NY: Springer New York; 2010. 20-29 p.
4. Santos Estévez L. Síntesis y caracterización de scaffolds poliméricos para la ingeniería de tejidos. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia; 2013.
5. Jin R, Dijkstra PJ. Hydrogels for Tissue Engineering Applications. Biomed Appl Hydrogels Handb. 2010;101(7):203–25.
6. Shillito RD, Paszkowski J, Potrykus I. Agarose Plating and a Bead Type Culture Technique Enable and Stimulate Development of Protplast-Derived Colonies in a Number of Plant Species. Plant Cell Rep. 1989;2:304–7.
7. Balgude AP, Yu X, Szymanski A, Bellamkonda R V. Agarose gel stiffness determines rate of DRG neurite extension in 3D cultures. Biomaterials. 2001;22(10):1077–84.
8. Kessler MW, Grande DA. Tissue engineering and cartilage. Organogenesis. 2008;4(1):28–32.
9. Dillon GP, Yu X, Sridharan A, Ranieri JP, Bellamkonda R V. The influence of physical structure and charge on neurite extension in a 3D hydrogel scaffold. J Biomater Sci Polym Ed. 1998;9(10):1049–69.
10. Carriel V, Garzon I, Jimrnez JM, Oliveira ACX, Arias-Santiago S, Campos A, et al. Epithelial and stromal developmental patterns in a novel substitute of the human skin generated with fibrin-agarose biomaterials. Cells Tissues Organs. 2012;196(1):1–12.

11. Alaminos M, Sánchez-Quevedo MDC, Muñoz-Ávila JI, Serrano D, Medialdea S, Carreras I, et al. Construction of a complete rabbit cornea substitute using a fibrin-agarose scaffold. Investig Ophthalmol Vis Sci. 2006;47(8):3311–7.

12. Sanchez-Quevedo MC, Alaminos M, Capitan .L.M., Moreu G, Garzon I, Crespo PV, et al. Histological and histochemical evaluation of human oral mucosa constructs developed by tissue engineering. Histol Histopathol. 2007;(22):631–40.

13. Carriel V, Scionti G, Campos F, Roda O, Castro B, Cornelissen M, et al. In vitro characterization of a nanostructured fibrin agarose bio-artificial nerve substitute. J Tissue Eng Regen Med. 2017 May;11(5):1412–26.

14. Nims RJ, Cigan AD, Albro MB, Hung CT, Ateshian GA. Synthesis rates and binding kinetics of matrix products in engineered cartilage constructs using chondrocyte-seeded agarose gels. J Biomech. 2014;47(9):2165–72.

15. Awad HA, Wickham MQ, Leddy HA, Gimble JM, Guilak F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. Biomaterials. 2004;25(16):3211–22.

16. Lai ZW, Schilling O. Protein Terminal Profiling. 2017;1574:105–14.

17. IHC World. Paraffin Sectioning Methods and Techniques [Internet]. 2013 [cited 2017 May 24]. Available from: http://www.ihcworld.com/_protocols/histology/paraffin_section.htm

18. Rodriguez-Arco L, Rodriguez IA, Carriel V, Bonhome-Espinosa AB, Campos F, Kuzhir P, et al. Biocompatible magnetic core–shell nanocomposites for engineered magnetic tissues. Nanoscale. 2016;8(15):8138–50.

19. Carriel V, Aneiros-Fernández J, Ruyffelaert M, Arias-Santiago S, Riady V, Izquierdo-Martínez F, et al. Histological and immunohistochemical study of an unusual type of gallbladder duplication. Histol Histopathol. 2014;29(7):957–64.

20. Martín-Piedra MA, Garzón I, Oliveira AC, Alfonso-Rodriguez CA, Carriel Araya VS, Scionti G, et al. Cell viability and proliferation capability of long-term human dental pulp stem cell cultures. Cytotherapy. 2014;16(2):266–77.

21. Boraas LC, Ahsan T. Lack of vimentin impairs endothelial differentiation of embryonic stem cells. Sci Rep. 2016;6(August):30814.

22. Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications. Vol. 24, Biomaterials. 2003. p. 4337–51.

23. Chi WJ, Chang YK, Hong SK. Agar degradation by microorganisms and agar-degrading enzymes. Appl Microbiol Biotechnol. 2012;94(4):917–30.

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102: (802):151-155

Enviado: 07-10-2017
Revisado: 10-10-2017
Aceptado: 08-11-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.or04

Análisis de biocompatibilidad de cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad

Analysis of the biocompatibility of high viscosity glass ionomer cements

Fernando Campos[1], Mario Aníbal Rodriguez[2], Daniel Durand-Herrera[1], Candela Sakalian[2], Jorge Uribe Echevarría[2], Ismael Angel Rodriguez[1, 2]
[1]*Grupo de Ingeniería Tisular, Universidad de Granada, España*
[2]*Cátedra "B" de Histología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina*

Resumen
Objetivo: El objetivo del presente trabajo ha sido analizar la biocompatibilidad de dos cementos ionomero de vidrio de alta viscosidad (CIVAV) en un modelo experimental *in vitro* de fibroblastos gingivales humanos utilizando criterios morfológicos, bioquímicos y metabólicos.
Metodos: Fibroblastos gingivales humanos fueron cultivados en placa de 24 pocillos en una concentración de $2x10^5$ células/500 µl de medio cultivo DMEM. Las células fueron expuestas, durante 72 horas, a discos de 2 mm de diámetro y 1 mm de espesor de dos CIVAV EQUIA Forte Fil (EFT) (GC Corporation, Japan) y EQUIA Fil (EFL) (GC Corporation, Japan). Para analizar las posibles alteraciones morfológicas, las células fueron examinadas mediante microscopía óptica. Se utilizó para analizar proliferación celular la técnica de WTS-1 y para detectar alteraciones en la membrana nuclear se utilizó test de ADN libre. El control positivo fue fibroblastos cultivados en medio DMEM (CM) y el control negativo fue fibroblastos incubados en 2% tritón X-100 (CT). Para determinar diferencias globales entre todos los grupos experimentales se empleó la prueba de Kruskal-Wallis y una $p< 0,05$.
Resultados: La microscopía óptica no mostró alteraciones morfológicas en las células expuestas a los ionómeros analizados. Asimismo, la identificación de ADN mostró un comportamiento homogeneo entre EFT, EFL y el control positivo no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$). El análisis de proliferación celular resultó en EFT: 95,73 % y en EFL: 82,61 %, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos experimentales ($p<0,001$).
Conclusión: Los CIVAV muestran un comportamiento de biocompatibilidad aceptable en un modelo experimental *in vitro* de fibroblastos gingivales humanos. Estos biomateriales podrían ser materiales de elección para resolver de manera más simple obturaciones que necesitan realizarse en cavidades en dentina profunda.

Palabras clave:
Biocompatibilidad, cementos de ionómero de vidrio, fibroblastos gingivales humanos.

Abstract
Objetive: The objetive of this study was to analize the biocompatibility of two high viscosity glass ionomer cements (CIVAV) in *in vitro* experimental model of human gingival fibroblast using by metabolic, biochemical and morphology criteria.
Methods: Human gingival fibroblasts were plated on 24-well plate inserts at final concentration of $2x10^5$ cells/500 ul of DMEM culture medium were used. Cells were exposed during 72 hours to discs of 2 mm diameter and 1 mm of thickness of a CIVAV EQUIA Forte Fil (EFT) (GC Corporation, Japan), and EQUIA Fil (EFL) (GC Corporation). To analyze morphological alterations, cells were examined by light microscopy. In addition, for cell proliferation analysis, WTS-1 technique was used and nuclear membrane alterations were determined by quantification of free DNA. The fibroblasts cultured in DMEM medium (CM) were positive control and fibroblasts incubated in 2% Triton X (CT) were negative control. To determine global differences between the experimental groups Kruskal-Wallis test was used ($p<0.05$).
Results: The results did not show significant morphological changes in cells exposed to biomaterials. Moreover, DNA test showed similar result in EFT, EFL and positive control without differences statistically significant ($p<0.05$). The results in cell proliferation assays were: EFT: 95.73 % and EFL: 82.61 %, and showed differences statistically significant between the experimental groups ($p<0.001$).
Conclusion: CIVAV showed an acceptable behavior of biocompatibility in the *in vitro* experimental model of human gingival fibroblasts. These biomaterials could be selected in restauration of cavities with highly compromised dentine surface.

Keywords: Biocompatibility, glass ionomer cements, human gingival fibroblasts

ACTUALIDAD MÉDICA
www.actualidadmedica.es
© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Ismael Angel Rodríguez.
Dirección: Calle Haya de la Torre s/n, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina.
Email: ismaelrodriguez18@hotmail.com
Te: 00543514333033/32.

INTRODUCCIÓN

Los cementos ionómero de vidrio son biomateriales utilizados en la protección y sellado del complejo dentinopulpar debido a su capacidad para adherirse a estructuras dentales, en especial a la dentina (1, 2). En este contexto, los biomateriales, además de sus buenas propiedades físicas, deben ser biocompatibles con la finalidad de promover la preservación del tejido pulpar y su normal funcionalidad. En este sentido, estudios previos han demostrado que los cementos ionómero de vidrio modificados con resina son más citotóxicos que los cementos ionómero de vidrio convencionales, esto es debido a la presencia de monómeros resinosos en su composición (3). Asimismo, se ha demostrado que los monómeros resinosos como el HEMA (2-hidroxietilmetacrilato), BIS-GMA (bis-glicidil – metacrilato), TEGDMA (trietilenglicoldimetacrilato) y UDMA (uretanodimetacrilato), son citotóxicos, al analizarlos por separado o bien en forma combinada, en dosis y tiempos diferentes sobre distintas líneas celulares (4-7). En consecuencia, esto exige por parte del profesional seleccionar el material adecuado para cada situación clínica valorando además el sustrato dentario donde va tomar contacto el biomaterial.

En la actualidad han surgido nuevos cementos ionómero de vidrio convencionales de alta viscosidad que permiten obturar en bloque de hasta 4 mm del biomaterial en una cavidad dentaria y de esta manera simplificar las maniobras operatorias. Esto es posible ya que se incorporaron cambios en la composición de estos biomateriales con la finalidad de aumentar la dureza, la resistencia y además mejorar su translucidez y coloración natural (8). De manera que estos biomateriales además de ser utilizados en dentina profunda como protectores del complejo dentino-pulpar, permiten en forma simultánea funcionar como materiales de restauración de una preparación cavitaria.

Los cambios en la composición de estos biomateriales exige realizar un control de calidad de los mismos analizando entre otras las propiedades de biocompatibilidad (9). En el control de calidad de la biocompatibilidad de biomateriales odontológicos los modelos experimentales *in vitro* son necesarios y recomendados por ANSI/ADA para conocer en profundidad los mecanismos de acción de los mismos (10); y en este sentido, en la actualidad se disponen de distintos ensayos que analizan la viabilidad celular teniendo en cuenta criterios morfológicos, bioquímicos y metabólicos (6, 11).

A partir de lo expuesto en este trabajo nuestro objetivo ha sido analizar la biocompatibilidad de dos cementos ionómero de vidrio convencionales de alta viscosidad en un modelo experimental *in vitro* de fibroblastos gingivales humanos utilizando criterios morfológicos, bioquímicos y metabólicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo celular y tratamiento.

Fibroblastos gingivales humanos fueron cultivados en un medio de cultivo DMEM rico en glucosa (Sigma-Aldrich Ref. D5796) suplementado con antibióticos-antimicóticos (100U/ml de penicilina G, 100 mg/ml de estreptomicina y 0.25mg/ml de anfotericina B; Sigma-Aldrich Ref. A5955) y suero bovino fetal (SBF) (Sigma-Aldrich Ref. F9665) al 10.0 %. Las células luego fueron cultivadas en placas de 24 pocillos a una concentración de 20000 células/500 µl de medio de cultivo DMEM, con 10.0 % SBF y antibióticos y se incubaron a 37º C con un 5.0 % de dióxido de carbono durante 24 horas. Cumplido este tiempo y obtenida la adhesión de las células a la base de cada uno de los pocillos, fueron lavados con PBS y recibieron 500 µl de medio de cultivo DMEM.

Los biomateriales utilizados fueron el cemento ionómero de vidrio EQUIA Forte Fil (EFT) (GC Corporation, Japan) y EQUIA Fil (EFL) (GC Corporation, Japan). Los mismos fueron preparados según las recomendaciones del fabricante e insertados en moldes siliconados cilíndricos con una apertura de 2 mm de diámetro y 1 mm de espesor. Los mismos fueron polimerizados por reacción química a los 5 minutos y posteriormente fueron extraídos de los moldes siliconados y colocados sobre un inserto (Transwell) que posee una membrana de poliester microporosa en la base con poros de 0,4 µm (Costar, Corning; Corning, NY, USA). Se incorporó a cada pocillo, con las células y los insertos, 1500 µl de medio de cultivo hasta cubrir el biomaterial. De esta manera se garantizó que las partículas del biomaterial que se desprendieran fluyeran a través de la membrana y tomaran contacto con las células. Las células sometidas a la acción de los distintos cementos ionómero de vidrio fueron analizadas a las 72 horas. Como control positivo (100% citotóxico) se utilizó Control Tritón X-100 al 2.0% (Sigma-Aldrich) (CT) y como control negativo (no citotóxico) se utilizó medio de cultivo DMEM (CM).

Análisis Morfológico.

Con el objetivo de analizar las posibles alteraciones morfológicas de los fibroblastos gingivales humanos tras la exposición a los diferentes cementos ionómero de vidrio las células adheridas a la superficie de los pocillos fueron observadas y analizadas con un microscopio óptico de luz invertida (Nikon Eclipse 90i, Tokio, Japan), como previamente fue descrito (3)

Análisis de proliferación celular mediante test WST-1.

Se determinó la biocompatibilidad de los distintos cementos de ionómero de vidrio usando el test de WST-1; para ello se retiró el sobrenadante del medio de cultivo de cada pocillo y las células fueron lavadas con PBS. Posteriormente se agregó a los pocillos una alícuota del reactivo de WST-1 (Roche, Germany) en una concentración de 10.0 µL en 100.0 µL de medio de cultivo. Las células fueron incubadas en esa solución durante 4 horas y posteriormente se evaluó la viabilidad usando un lector de placas (Biochrom® Asys UVM340) estableciendo como longitud de onda un rango de 450-620 nm.

Test de cuantificación de ADN libre.

Se identificó y cuantificó el ADN liberado al medio de cultivo como consecuencia de la muerte celular. Para ello, se tomó del sobrenadante de cada pocillo donde las células habían sido cultivadas, 10.0µL de medio y se llevó a un espectofotometro Thermo Scientific Nano drop 2000 (longitud de onda 260-280 nm.).

Análisis estadístico.

Para determinar diferencias globales entre todos los grupos experimentales se empleó la prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados con un valor de $p < 0,05$ se consideró como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Analisis morfológicos

Los fibroblastos gingivales humanos pertenecientes al control negativo (CM) y a los distintos cementos ionomero de vidrio EFT y EFL, se muestran con una morfología normal caracterizada por células con formas de finas prolongaciones

alargadas o estrelladas (Figura 1 A, B, C). Por el contrario, las células del control positivo (CT) se muestran con alteraciones morfológicas caracterizadas por poseer formas esféricas y ruptura de sus membranas celulares (Figura 1 D).

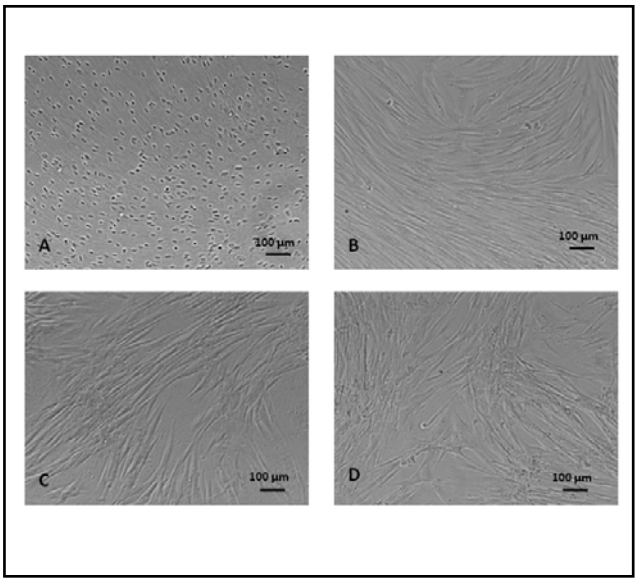


Figura 1. Se observan las características morfológicas de los fibroblastos gingivales humanos de los grupos experimentales control negativo (A), control positivo (B), y de la exposición de las mismas a los cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad Equia Fill (C) y Equia Forte (D) durante 72 horas.

Análisis de proliferación celular mediante test WST-1

Cuando evaluamos los fibroblastos gingivales humanos expuestos al cemento ionómero de vidrio EFT observamos valores de absorbancia de 1.840 ± 0.14 y un equivalente a proliferación celular del 95.73 %, mientras que cuando esas células son expuestas a EFL los valores de absorbancia fueron de 1.587 ± 0.086 y la proliferación celular del 82.61 %. Para el control positivo la absorbancia fue de 2.156 ± 0.032 y la proliferación celular del 100.0 %, mientras que para el control negativo los resultados fueron 0.23 de absorbancia y 0.0 % de proliferación celular (Figuras 2a y 2b, Tabla 1). Todos los grupos se diferenciaron significativamente entre sí ($p<0.05$).

Test de cuantificación de ADN libre

La identificación de ADN liberado al medio de cultivo mostró que las muestras en la cual las células fueron expuestas a EFT (142.7 ± 5,5 µg), EFL (140 ± 2 µg) y el control positivo (139.6 ± 1.9 µg) constituyen un grupo homogéneo, sin diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$). Este grupo homogéneo si posee diferencias estadísticamente significativas ($p>0.001$) cuando se lo compara con el control negative (1241.7 ± 95.2 µg), en el cual se observan mayores concentraciones de ADN liberado al medio de cultivo (Figura 3, Tabla 2 - ver página siguiente).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados permitieron determinar que los cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad analizados en un modelo experimental *in vitro* de fibroblastos gingivales humanos mostraron niveles aceptables de biocompatibilidad.

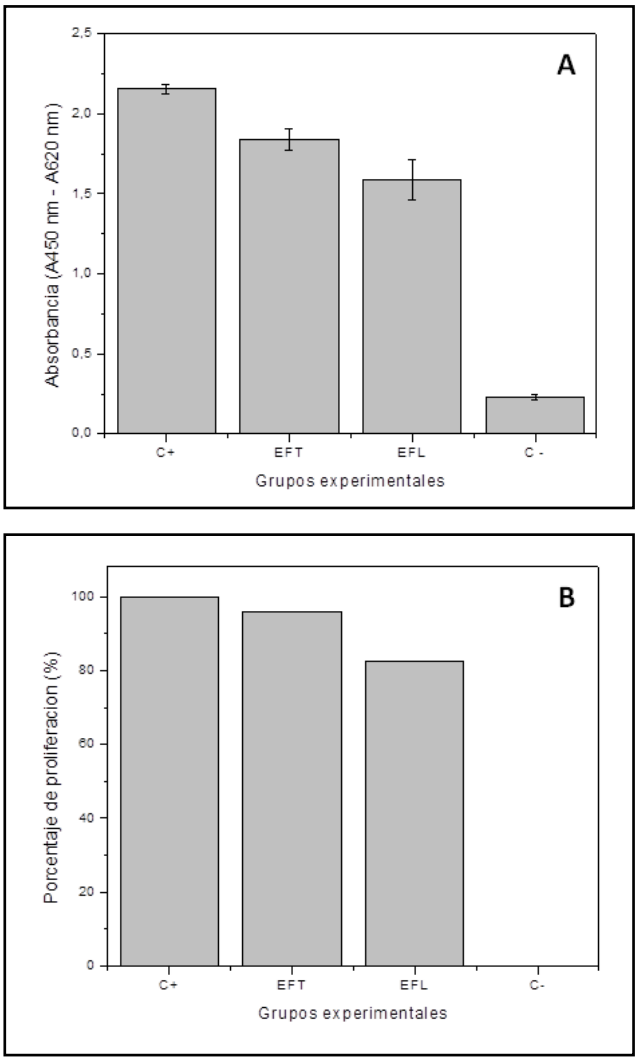


Figura 2. Se representan los resultados de WST-1 expresados en valores de absorbancia (2A) y en porcentaje de proliferación celular (2B) de fibroblastos gingivales humanos expuestos a distintos cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad Equia Forte (EFT) y Equia Fill (EFL) y de los controles positivo y negativo.

WST - 1				
GRUPO	**EFL**	**EFT**	**Control (+)**	**Control (-)**
EFL	-	0,047	<0,001	0,031
EFT	0,047	-	0,031	<0,001
Control (+)	<0,001	0,031	-	<0,001
Control (-)	0,031	<0,001	<0,001	-

Tabla 1. Se observan los valores de significación estadística de contrastes múltiples entre grupos (p-valores) obtenidos mediante el test de Kruskal Wallis sobre los resultados de absorbancia del test de WST-1.

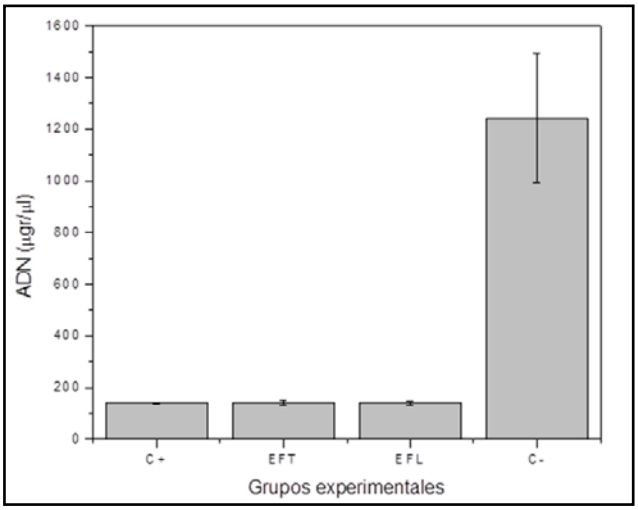


Figura 3. Se expresa la liberación de ADN al medio (µgr/µl) de fibroblastos gingivales humanos expuestos a distintos cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad Equia Fill (EFL) y Equia Forte (EFT) y se exponen los resultados de los controles positivo y negativos.

ADN				
GRUPO	**EFL**	**EFT**	**Control (+)**	**Control (-)**
EFL	-	0,959	0,435	<0,001
EFT	0,959	-	0,466	<0,001
Control (+)	0,435	0,466	-	<0,001
Control (-)	<0,001	<0,001	<0,001	-

Tabla 2. Se observan los valores de significación estadística de contrastes múltiples entre grupos (p-valores) obtenidos mediante el test de Kruskal Wallis sobre la concentración de ADN (µg/mL) liberado al medio de cultivo.

Las razones por las que hemos utilizado fibroblastos gingivales humanos se deben a que diversos autores han demostrado que es un modelo experimental idóneo para valorar biocompatibilidad de biomateriales odontológicos, en especial cementos ionómero de vidrios, porque las mismas pertenecen a un entorno bucal y porque permiten realizar determinaciones morfológicas, bioquímicas y metabólicas con un alto grado de fiabilidad (3, 7, 12, 13).

Seleccionamos en este trabajo dos cementos de ionómero de vidrio de alta viscosidad, en este caso EFT y EFL, que son dos biomateriales que, si bien tienen el mismo objetivo, es decir, obturar una cavidad en bloque de 4.0mm y así simplificar las maniobras operatorias, poseen algunas variaciones en su composición química. En este sentido, (8) han valorado la citotoxicidad de ionomeros convencionales, pero ha incorporado una variante que es agregar a esos biomateriales nanoparticulas de hidroxiapatita y sílice con la finalidad de simular ionomeros de alta viscosidad.

Cuando analizamos la biocompatibilidad mediante la microscopia óptica para valorar determinaciones morfológicas, observamos que las células del control positivo y las expuestas a los ionómeros EFT y EFL presentaban formas ortotípicas caracterizadas por fibroblastos con aspectos ahusados o estrellados. Estos resultados coinciden con los mostrados por Rodriguez o Noorani donde los mismos observan que células en contacto con cementos ionómero de vidrio convencionales a las 72 horas presentaban las mismas formas. Asimismo, Noorani muestra similares resultados cuando pone en contacto un cemento ionómero de vidrio convencional de alta viscosidad. Sin embargo, cuando los cementos ionómero de vidrio incorporan resina en su composición, diversos autores han mostrado que las células sufren alteraciones morfológicas que se caracterizan por la presencia de células con formas redondas y ruptura de la membrana plasmática (3, 14, 15).

Cuando analizamos la proliferación celular observamos que con EFT fue del orden del 95,73% y EFL de 82,61 %, en ambos casos la viabilidad celular es alta, más si se la compara con el control negativo. De todas maneras, cuando a estos biomateriales los comparamos con el control positivo, observamos que la disminución de la viabilidad la diferencia fue estadísticamente significativa. Esa ligera disminución en la viabilidad podría deberse a la presencia de pequeñas partículas de aluminio y otros iones metálicos, entre ellos el zinc, presentes en los cementos ionómero de vidrio convencionales (16, 17). Nuestros hallazgos coinciden con Costa et al 1999, quienes utilizando el test MTT, un método con una misma fundamentación técnica a la por nosotros desarrollada, observaron que un cemento ionómero de vidrio convencional producía a las 72 horas citotoxicidad sobre células odontoblasticas MDPC-23, de todas maneras esa citotoxicidad era marcadamente inferior a la observada con los cementos ionómero de vidrio modificados con resinas.

En este trabajo se utilizó también para valorar viabilidad celular el test de ADN. Este método que permite detectar por espectrofotometría los fragmentos de ADN liberados al medio de cultivo ha sido utilizado por otros autores y ha mostrado un alto nivel de fiabillidad (18). En nuestro trabajo al analizar la biocompatibilidad mediante este test, se observó que los fibroblastos expuestos a los ionómeros EFT y EFL mostraban niveles de ADN similares al control negativo. Esto permite interpretar que tanto EFT y EFL no afectan la permeabilidad de la membrana nuclear de las células y por tanto confirman el carácter inocuo de estos biomateriales.

CONCLUSIÓN

La incorporación a los cementos ionómero de vidrio de hidroxiapatita y sílice no genera alteraciones celulares de magnitud en un modelo experimental *in vitro* de fibroblastos gingivales humanos. En este sentido, los cementos ionómero de vidrio de alta viscosidad podrían ser materiales de elección para resolver de manera más simple obturaciones que necesitan realizarse en cavidades en dentina profunda.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por: SECYT Codigo 313/16

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Powis DR, Folleras T, Merson SA, Wilson AD. Improved adhesion of a glass ionomer cement to dentin and enamel. J Dent Res. 1982;61(12):1416-22.

2. Smith DC. Development of glass-ionomer cement systems. Biomaterials. 1998;19(6):467-78.

3. Rodriguez IA, Ferrara CA, Campos-Sanchez F, Alaminos M, Echevarria JU, Campos A. An in vitro biocompatibility study of conventional and resin-modified glass ionomer cements. J Adhes Dent. 2013;15(6):541-6.

4. Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks CT, Dennison JB. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. J Dent Res. 1995;74(9):1602-6.

5. Bouillaguet S, Wataha JC, Virgillito M, Gonzalez L, Rakich DR, Meyer JM. Effect of sub-lethal concentrations of HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate) on THP-1 human monocyte-macrophages, in vitro. Dent Mater. 2000;16(3):213-7.

6. Rodriguez IA, Fernandez-Segura E, Ceballos G, Arrebola F, del Carmen Sanchez-Quevedo M, Campos A. Hybrid cell death induced by exposure to 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA): an ultrastructural and X-ray microanalytical study. J Adhes Dent. 2008;10(2):105-11.

7. Rodriguez IA, Lopez-Gonzalez G, Rodriguez MA, Campos-Sanchez F, Alaminos M. Biological evaluation of 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) toxicity in human gingival fibroblasts with histochemical X-ray microanalysis. J Adhes Dent. 2011;13(4):375-81.

8. Noorani TY, Luddin N, Rahman IA, Masudi SM. In Vitro Cytotoxicity Evaluation of Novel Nano-Hydroxyapatite-Silica Incorporated Glass Ionomer Cement. J Clin Diagn Res. 2017;11(4):ZC105-ZC9.

9. Arita K, Yamamoto A, Shinonaga Y, Harada K, Abe Y, Nakagawa K, et al. Hydroxyapatite particle characteristics influence the enhancement of the mechanical and chemical properties of conventional restorative glass ionomer cement. Dent Mater J. 2011;30(5):672-83.

10. Costa CA, Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. Dent Mater. 1999;15(6):434-41.

11. Oliveira AC, Rodriguez IA, Garzon I, Martin-Piedra MA, Alfonso-Rodriguez CA, Garcia JM, et al. An early and late cytotoxicity evaluation of lidocaine on human oral mucosa fibroblasts. Exp Biol Med (Maywood). 2014;239(1):71-82.

12. Issa Y, Watts DC, Brunton PA, Waters CM, Duxbury AJ. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. Dent Mater. 2004;20(1):12-20.

13. Reichl FX, Esters M, Simon S, Seiss M, Kehe K, Kleinsasser N, et al. Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. Arch Toxicol. 2006;80(6):370-7.

14. de Souza Costa CA, Hebling J, Garcia-Godoy F, Hanks CT. In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. Biomaterials. 2003;24(21):3853-8.

15. Aranha AM, Giro EM, Souza PP, Hebling J, de Souza Costa CA. Effect of curing regime on the cytotoxicity of resin-modified glass-ionomer lining cements applied to an odontoblast-cell line. Dent Mater. 2006;22(9):864-9.

16. Soheili Majd E, Goldberg M, Stanislawski L. In vitro effects of ascorbate and Trolox on the biocompatibility of dental restorative materials. Biomaterials. 2003;24(1):3-9.

17. Stanislawski L, Daniau X, Lauti A, Goldberg M. Factors responsible for pulp cell cytotoxicity induced by resin-modified glass ionomer cements. J Biomed Mater Res. 1999;48(3):277-88.

18. Bortner CD, Oldenburg NB, Cidlowski JA. The role of DNA fragmentation in apoptosis. Trends Cell Biol. 1995;5(1):21-6.

Actualidad
Médica

ORIGINAL

Actual. Med.
2017; 102: (802): 156-161

Enviado: 03-11-2017
Revisado:07-11-2017
Aceptado: 01-12-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.or05

Médicos generales, actividad física y ejercicio: hábitos personales y conocimientos académicos en Costa Rica

Costa Rican General Practitioners, Physical Activity and Exercise: Personal Habits and Academic Knowledge

Sergio Jiménez Morgan[1], Jessenia Hernández Elizondo[2]
[1]*Docente de la Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica. Grado académico: Licenciado en Medicina y Cirugía, Universidad de Costa Rica*
[2]*Ph.D. Docente de la Escuela de Educación Física y Deportes, Universidad de Costa Rica. Grado académico: Doctorado académico, Universidad de Granada (España)*

Resumen
Objetivo. Se buscó determinar si los hábitos de actividad física y ejercicio de un grupo de médicos generales de Costa Rica se asocian con su conocimiento teórico de las recomendaciones actuales de actividad física y ejercicio para población adulta sana. Como objetivo secundario, se buscó recolectar información demográfica y antropométrica de una muestra de médicos generales provenientes de todo el país.
Material y método. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal a partir del Cuestionario Internacional de Actividad Física, y se creó y validó un cuestionario de conocimientos mínimos que debería tener un médico general acerca de recomendaciones de actividad física y ejercicio para población adulta sana establecidas por el Colegio Americano de Medicina del Deporte. Se midieron variables antropométricas con una balanza Omron®.
Resultados. De los 619 médicos generales graduados en el 2017, 531 respondieron el instrumento escrito (85.78%). En promedio, los participantes dedicaban 192.28 minutos por semana a realizar actividad física de intensidad moderada o alta. Aquellos médicos físicamente inactivos mostraron menor conocimiento de las recomendaciones de actividad física y ejercicio para población adulta sana (Rho = –0.091, p = 0.037). El 80.6% de los participantes (n = 428) respondió en forma correcta solamente dos o menos preguntas relacionadas con dichas recomendaciones.
Conclusión. Es de gran importancia que las universidades que imparten la carrera de Medicina en Costa Rica refuercen esta área de conocimiento en las mallas curriculares, dada la abundante evidencia científica que demuestra los beneficios de la actividad física y el ejercicio como prevención primaria de múltiples patologías.

Palabras clave: Médicos generales, actividad motora, Costa Rica.

Abstract
Objective. The aim of the study was to determine if physical activity and exercise habits from a group of Costa Rican general practitioners are related to their knowledge of the current recommendations of physical activity and exercise for healthy adults. As a secondary objective, demographic and anthropometric was collected from a sample of general practitioners from all over the country.
Methods. A cross-sectional descriptive study was carried out based on the International Physical Activity Questionnaire, and a questionnaire was created and validated regarding the minimum knowledge that a general practitioner should have based on the recommendations on physical activity and exercise for healthy adults from the American College of Sports Medicine. Several anthropometric variables were measured with an Omron® body analyzer scale.
Results. Out of the 619 newly graduated general physicians in 2017, 531 of them answered the questionnaire (85.78%). On average, the participants spent 192.28 minutes per week on moderate-to-vigorous physical activities. Those physicians who were physically inactive had a lower knowledge of the basic recommendations on physical activity and exercise (Rho = –0.091, p = 0.037). Besides, 80.6% of the participants (n = 428) answered correctly to just two or less of the questions regarding those recommendations.
Conclusion. It is of great importance that the universities in Costa Rica that offer a medical career reinforce this field of knowledge in their curricula, given the abundant scientific evidence that demonstrates the benefits of physical activity and exercise as primary prevention for multiple diseases.

Keywords: General Practitioners, Motor Activity, Costa Rica.

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Sergio Jiménez Morgan
Teléfono (506)25118277
Correo electrónico: sergio.jimenezmorgan@ucr.ac.cr
Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

La actividad física (AF) regular ha mostrado beneficios similares a los de fármacos convencionales utilizados para tratar la insuficiencia cardiaca, la diabetes, y en la prevención de enfermedad arterial coronaria (1). Existe amplia evidencia científica que respalda que la AF y el ejercicio pueden ser considerados un tratamiento médico, y que los médicos deberían promoverlo y prescribirlo más a sus pacientes (2). Adicionalmente, se ha determinado que los profesionales en Medicina que son físicamente más activos son quienes más promocionan la AF y el ejercicio entre sus pacientes, y cumplen un rol como modelos sociales cuyos propios hábitos de vida influyen en su práctica clínica y la credibilidad que desarrollan ante sus pacientes (3-5).

Sin embargo, una barrera que enfrentan los médicos para brindar recomendaciones correctas de AF y ejercicio a sus pacientes es la falta de conocimiento teórico en dicho campo (6). Esto ha originado reformas curriculares en países como Estados Unidos y Canadá, que buscan que las y los estudiantes de medicina adquieran los conocimientos necesarios para posteriormente brindar recomendaciones correctas de AF y ejercicio (7-10).

Asimismo, se han evaluado los alcances de una mayor promoción de la AF y el ejercicio en el nivel primario de atención, como lo demuestran estudios en España (11), Australia (12,13), Suiza (14) y Alemania (15). Sin embargo, a pesar de que el 80% de las muertes por inactividad física y enfermedades crónicas ocurren en países de bajos recursos económicos (5), son pocos los estudios que han abordado esta temática en dichos contextos. En Latinoamérica, Colombia (16), Argentina (17) y Brasil (18) son algunos ejemplos. Hasta donde los autores tenemos conocimiento, esta es la primera investigación en Costa Rica que aborda esta temática y que, adicionalmente, recaba información demográfica y antropométrica de una muestra de médicos generales provenientes de todo el país.

OBJETIVO

Determinar si los hábitos de actividad física y ejercicio de un grupo de médicos generales de Costa Rica están relacionados con su conocimiento teórico de algunas recomendaciones básicas de AF y ejercicio para población adulta sana.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño

Estudio observacional de corte transversal a partir de la aplicación presencial de cuestionarios impresos diseñados para la investigación, y medición de variables antropométricas con balanzas de bioimpedancia Omron®.

Población de interés

Médicas y médicos generales de Costa Rica que hubieran concluido sus estudios universitarios en el año 2016, sin distinción de la universidad de procedencia, y que en el mes de enero 2017 se hubiesen inscrito en el Curso de Ética Médica del Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica. En total, 619 profesionales recién egresados matricularon dicho curso. Se escogió un grupo de médicos generales recién graduados con el objetivo de normalizar el nivel de experiencia laboral.

Selección de la muestra, lugar y momento de ejecución de la investigación

Selección por muestreo no probabilístico (muestra por conveniencia). Se aplicaron los cuestionarios escritos a los 619 médicos generales que asistieron al Curso de Ética Médica del Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica en el mes de enero 2017. El lugar de aplicación fue el auditorio principal de dicho colegio profesional. Asimismo, se solicitó la participación voluntaria en las mediciones antropométricas. La aplicación de los instrumentos y la toma de mediciones fueron realizadas en tres semanas distintas, ya que los 619 médicos inscritos en el curso fueron distribuidos en tres grupos para ajustarse a la capacidad del espacio físico.

Criterios de inclusión y exclusión

Fueron incluidos aquellos participantes que completaron en su totalidad el cuestionario escrito. Asimismo, la participación en el cuestionario escrito no fue excluyente de la medición antropométrica, y viceversa (se podía participar únicamente en alguna, o en ambas partes del estudio).

Instrumentos y mediciones

Cuestionario impreso constituido por los siguientes apartados: (a) Consentimiento informado para participar en estudio observacional de carácter anónimo; (b) Cuestionario de AF cotidiana; (c) Cuestionario de algunos conocimientos requeridos para brindar recomendaciones básicas de AF y ejercicio a población adulta sana; (d) Preguntas cerradas (sí / no) acerca de la formación académica acerca de recomendaciones de AF y ejercicio para población adulta sana; y (e) Una pregunta abierta (definir el concepto de ejercicio físico).

Para fines de unificación conceptual, los términos “actividad física” y “ejercicio” se basaron en las definiciones de Caspersen et al. (19), quienes se refieren a AF como cualquier movimiento corporal producido por la musculatura esquelética que resulte en gasto energético, y ejercicio como aquella AF planeada, estructurada y repetitiva cuyo objetivo es el mejoramiento o mantenimiento de la aptitud física.

El cuestionario de AF se basó en el *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), del cual se ha demostrado su confiabilidad y validez a través de replicaciones en muchos países (20). Se empleó la versión en idioma español, de la cual se utilizaron únicamente los siguientes apartados debido al tiempo que fue concedido para la aplicación del instrumento en el contexto en que se hizo: tipo de ejercicio practicado frecuentemente por el sujeto, frecuencia semanal, tiempo dedicado en cada sesión (en minutos), tiempo dedicado cada día a actividades cotidianas.

El cuestionario de conocimientos requeridos para brindar recomendaciones básicas de AF y ejercicio a población adulta sana fue diseñado por los autores como parte de esta investigación, con base en los lineamientos del *American College of Sports Medicine* (ACSM) y Pescatello (21), y Riebe et al. (22).

La segunda parte del estudio consistió en la medición antropométrica mediante una Balanza con Analizador de Fitness Omrom®, modelo HBF–510LA. De cada participante se registró su edad, sexo y talla (autorreportada). Fueron medidas cinco variables antropométricas: masa corporal (kg), grasa corporal (%), grasa visceral (%), índice de masa corporal (IMC), y músculo esquelético (%). Se emplearon los rangos establecidos en el manual de usuario de la balanza para clasificar los valores como bajos, normales, altos o muy altos. Se siguieron las recomendaciones establecidas en el manual de usuario para el protocolo de toma correcta de las mediciones.

Análisis estadístico

Pruebas descriptivas generales, pruebas de Levene para homogeneidad de varianzas, pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, correlaciones de Pearson y de Spearman, distribuciones de frecuencias, pruebas de Chi-cuadrado, y coeficientes Phi.

Para el cuestionario creado como parte de esta investigación se determinó la validez de contenido mediante juicio de expertos siguiendo los pasos propuestos por Crocker y Algina (23). Se empleó la fórmula *Content Validity Ratio* (CVR) propuesta en 1975 por Lawshe (24), y se utilizaron los puntos de corte propuestos por Ayre y Scally (25). La confiabilidad de consistencia interna se estimó mediante la fórmula KR-20 (26), por tratarse de preguntas de selección múltiple con una única opción de respuesta correcta (escala dicotómica). Adicionalmente, se calcularon los siguientes indicadores: índices de dificultad (InDif), índices de discriminación (InDis) y correlaciones biseriales puntuales (CBP).

Se empleó el paquete estadístico SPSS® versión 20.0 así como Microsoft Excel® 2010. El almacenamiento y gestión de las referencias bibliográficas se realizó con el software Mendeley® Desktop versión 1.16.3.

Consideraciones éticas

Se elaboró un consentimiento informado detallado que explicó la finalidad del estudio, la participación voluntaria y anónima de cada sujeto, así como la confidencialidad en el manejo de la información. Cada médico leyó dicho consentimiento, y lo firmó en caso de aceptación. Se entregó a cada persona una copia de dicho documento, firmada por el investigador principal.

RESULTADOS

El 85.78% de los médicos generales costarricenses que se graduaron en 2017 completaron el cuestionario (N = 531). La tabla 1 muestra las características demográficas principales de la muestra. Por otra parte, el 29.75% de los participantes (N = 158) accedió a realizarse mediciones antropométricas, cuyos resultados pueden ser consultados en la tabla 2.

Del total de 304 mujeres, 187 de ellas afirmaron realizar ejercicio (61.51%), mientras que de los 227 hombres, 188 lo hicieron (82.82%). Realizar ejercicio dependía del sexo (χ^2 = 28.435, p < 0.001), con un nivel de asociación débil que señala que era más probable que una persona de la muestra que afirmara realizarlo fuera hombre (Phi = 0.231, p < 0.001). En promedio, los sujetos dedicaban 192.28 minutos semanales a dicha actividad, sin diferencias por sexo (t = –1.524, p = 0.128). Los ejercicios más realizados correspondieron a correr (31.26%), entrenamiento contra resistencia en gimnasio (23.91%), caminar rápido (16.19%) y jugar al fútbol (14.87%).

No se encontraron diferencias en el medio de transporte utilizado por las y los participantes en función de su sexo (Chi 2 = 4.567, p = 0.102). Del total de participantes de la muestra, el 56.87% (N = 302) se desplaza utilizando vehículo particular, mientras que un 30.89% (n = 164) hace uso del transporte público y solamente un 12.24% (N = 65) se desplaza a pie o en bicicleta.

Cuestionario de conocimientos básicos para brindar recomendaciones de AF y ejercicio a población adulta sana

Previo a la ejecución de la investigación, el cuestionario contaba con 7 ítems. En la prueba de validez por juicio de expertos se obtuvo un CVR = 1 en los ítems 3, 4, 5 y 7; en los ítems 1 y 2, CVR = 0.818; en el ítem 6, CVR = 0.454, por lo cual fue eliminado. La estimación de la confiabilidad de consistencia interna con la fórmula KR-20 fue de 0.46.

La prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada a los puntajes totales fue significativa (K-S = 0.190, p < 0.001), por lo cual los grupos extremos para el cálculo de los IDis se conformaron con el 33% de los puntajes más altos y el 33% de los más bajos siguiendo la recomendación de Anastasi y Urbina (27). La tabla 3 muestra los InDif e InDis de cada ítem, así como su correspondiente interpretación. Todas las CBP mostraron significancia estadística (p < 0.001).

Del total de participantes que completó el cuestionario, 146 (27.50%) fallaron todas las preguntas, 187 (35.21%) acertaron una, 95 (17.89%) acertaron dos, 67 (12.62%) acertaron tres, 25 (4.71%) acertaron cuatro, 10 (1.88%) acertaron cinco y solamente 1 persona (0.19%) acertó las seis preguntas. En una escala del 1 al 6, la calificación promedio obtenida por el conjunto de participantes fue de 1.38 ± 1.26 puntos.

Aquellos médicos menos activos físicamente obtuvieron un menor puntaje en el cuestionario (Rho = –0.091, p = 0.037). No se encontró relación entre el sexo y dicho puntaje (Rho = 0.063, p = 0.149).

Del total de participantes, 168 personas (31.64%) afirmaron haber recibido algún curso relacionado con las recomendaciones de AF y ejercicio para población adulta sana. Sin embargo, de ellas solamente 19 (11.31%) brindaron por escrito una definición correcta del concepto “ejercicio”. Entre quienes definieron incorrectamente dicho concepto, la respuesta coincidente más frecuente (22.62%) correspondió a ejercicio como un “conjunto de actividades que generan un aumento en la frecuencia cardiaca o el metabolismo”.

DISCUSIÓN

Los médicos generales de Costa Rica que son físicamente inactivos poseen un menor conocimiento de las recomendaciones básicas de AF y ejercicio para población adulta sana. Estos profesionales podrían realizar una menor prevención primaria en comparación con aquellos médicos que sí realizan ejercicio y son físicamente más activos (4,5). Este hallazgo difiere de lo reportado por Ramírez-Cardona et al. (17), quienes no encontraron relación entre el nivel de AF de médicos generales argentinos y sus conocimientos en recomendaciones de AF y ejercicio. Sin embargo, sus hallazgos coincidieron con los de la presente investigación en cuanto al bajo conocimiento teórico mostrado por dichos profesionales en la temática abordada por ambos estudios.

A diferencia de lo reportado por Jiménez-Morgan y Hernández-Elizondo para estudiantes de medicina de primero a quinto año de la carrera de Medicina en la Universidad de Costa Rica (28), se determinó que los médicos generales recién graduados sí cumplieron con las recomendaciones actuales de actividad física semanal de intensidad moderada o alta. Esto podría explicarse por el momento en que fueron recolectados los datos: médicos generales recién egresados, en un periodo transitorio hacia su incorporación al mercado laboral, con mayor disponibilidad de tiempo libre.

Si bien se encontró una asociación inversa, estadísticamente significativa, entre el nivel de conocimiento de las recomendaciones básicas de AF y ejercicio para población adulta sana y la realización de ejercicio por parte de los participantes, dicho resultado debe ser interpretado con cautela por dos factores principales: (a) La muy débil relación mostrada por el estadístico Rho de Spearman; (b) La alta proporción de participantes que respondió correctamente a tan solo 2 o menos preguntas del cuestionario (n = 428, 80.60%), siendo el promedio de la muestra global de 1.38 ± 1.26 puntos (en una escala de 1 a 6). Es decir, la gran mayoría de los sujetos tiene conocimientos bastante escasos para brindar recomendaciones básicas de AF y ejercicio a población adulta sana.

Característica	Mujeres n = 304 (57.25%)	Hombres n = 227 (42.75%)	**Total N = 531 (100%)**
Edad (años)			
Media (DE)	26.01 (3.85)	25.85 (3.69)	25.93 (3.78)
Rango	22–54	22–47	22–54
Provincia			
San José	159 (52.30%)	131 (57.71%)	290 (54.61%)
Cartago	23 (7.57%)	18 (7.93%)	41 (7.72%)
Alajuela	54 (17.76%)	31 (13.66%)	85 (16.01%)
Heredia	48 (15.79%)	35 (15.42%)	83 (15.63%)
Otras	20 (6.58%)	12 (5.28%)	32 (6.03%)
Estado civil			
Soltero(a)	276 (90.79%)	211 (92.95%)	487 (91.71%)
Casado(a)	20 (6.58%)	10 (4.41%)	30 (5.65%)
Otro	8 (2.63%)	6 (2.64%)	14 (2.64%)
Número de hijos(as)			
0	268 (88.16%)	220 (96.92%)	488 (91.90%)
1 – 4	36 (11.84%)	7 (3.08%)	43 (8.10%)

Tabla 1. Características demográficas de la muestra, según sexo.
DE = desviación estándar; Otras provincias: Guanacaste, Puntarenas y Limón. Otro estado civil: unión de hecho, divorciado.

Variable	General (n=158)	Mujeres (n=101)	Hombres (n=57)	t	p
Masa corporal (kg)	67.80	61.96	78.16	–7.671	<0.001
Talla (m)	1.66	1.62	1.74	–11.573	<0.001
IMC (kg/m²)	24.29	23.53	25.65	–3.253	<0.001
Músculo esquelético (%)	30.40	26.55	37.22	–17.393	<0.001
Grasa corporal (%)	31.03	34.86	24.26	10.072	<0.001
Grasa visceral (%)	5.75	4.50	7.96	–7.341	<0.001

Tabla 2. Características antropométricas según sexo

Dificultad de los ítems					**Discriminación de los ítems**			
ÍTEM	RC	TR	ÍnDif	NDif	Dificultad para el 33% más alto	Dificultad para el 33% más bajo	ÍnDis	NDis
1	104	531	0.20	Alto	0.45	0.03	0.42	Alto
2	208	531	0.40	Normal	0.53	0.20	0.33	Adecuado
3	151	531	0.28	Alto	0.62	0.01	0.61	Alto
4	96	531	0.18	Alto	0.45	0.01	0.44	Alto
5	104	531	0.20	Alto	0.38	0.03	0.35	Adecuado
6	67	531	0.13	Alto	0.30	0.01	0.29	Adecuado

Tabla 3. Índices de dificultad y discriminación de los ítems
RC = respuestas correctas; TR = total de respuestas; InDif = Índice de dificultad; NDif = nivel de dificultad; InDis = índice de discriminación; NDis = Nivel de discriminación

La tabla 3 muestra que todas las preguntas lograron una discriminación adecuada o alta según los puntos de corte utilizados (23,29). Adicionalmente, el cálculo de las correlaciones biseriales puntuales entre los puntajes obtenidos y la selección de la respuesta correcta en cada ítem mostró significancia estadística en cada caso, lo cual indica que la escogencia de la alternativa correcta en cada pregunta se correlacionó en forma positiva con mayores puntajes totales. Es decir, cada ítem permitió discriminar en forma adecuada a aquellos participantes con mayores conocimientos y más alto puntaje, de aquellos con menor desempeño y puntajes más bajos.

En relación con el valor obtenido en la estimación de la confiabilidad de consistencia interna del cuestionario, es importante considerar que la confiabilidad de una prueba de conocimientos teóricos puede verse disminuida por factores internos del sujeto al momento de responder (30), entre los cuales se encuentran el nivel de concentración, aburrimiento, u optar por responder al azar. Los instrumentos fueron aplicados al final de la tarde, previo al momento de salida de los sujetos del auditorio en el cual se encontraban luego de todo un día de estar sentados. Contestar la prueba rápido para poder irse (posible selección al azar de la respuesta) o el desinterés son dos

factores que no podían ser controlados en su totalidad por los investigadores, y que pueden ser dos fuentes importantes de error aleatorio en los puntajes de error individuales. Adicionalmente, si el conjunto de ítems de una prueba presenta un alto nivel de dificultad, los sujetos suelen presentar puntajes más bajos con menor variabilidad (31), lo cual influye directamente en la fórmula KR-20. La confiabilidad depende tanto de la prueba en sí como de la muestra en la cual es aplicada, y es más una característica de los puntajes observados que de la prueba en sí misma (32).

Mejorar la formación académica de los médicos generales en relación con las recomendaciones de AF y ejercicio ha sido identificado como un aspecto de gran importancia en otros países. En Estados Unidos, aproximadamente el 50% de las mallas curriculares de la carrera de Medicina y Cirugía en Estados Unidos incluyen educación formal en el área de AF y ejercicio (33). La necesidad de mejorar este aspecto formativo en los médicos ha sido identificada en más países, por ejemplo Reino Unido (34), Argentina (17), Brasil (35) y Canadá (36).

ALCANCES Y LIMITACIONES

Hasta donde los autores tenemos conocimiento, esta es la primera investigación en Costa Rica que busca medir el conocimiento de algunas recomendaciones básicas de AF y ejercicio para población adulta sana por parte de un grupo de médicos generales recién egresados provenientes de todo el país, y su posible relación con los propios hábitos de AF y ejercicio de dichos profesionales. Asimismo, la información demográfica y antropométrica recopilada podría ser de utilidad para diversas instituciones estatales y del ámbito privado, ya que no se encuentra fácilmente disponible o publicada. La alta tasa de participación, tanto en el componente escrito como en las mediciones antropométricas, es otro aspecto valioso del presente estudio.

Debido a que estos profesionales se encuentran en estrecho contacto con la población adulta en el primer nivel de atención, los resultados de esta investigación buscan promover que se incluya en las mallas curriculares al menos un curso formal que aborde las recomendaciones de AF y ejercicio para población adulta, con el fin de que los médicos estén mejor capacitados y que puedan aplicar en forma correcta dicho conocimiento a sus propias vidas, y en sus contextos laborales y sociales.

La principal limitación de este estudio consistió en el tiempo real del cual se dispuso para la aplicación de los instrumentos y la medición de las variables antropométricas, así como el contexto en el que se recopiló la información. Estos factores incidieron directamente sobre la extensión del cuestionario de conocimientos de recomendaciones básicas de AF y ejercicio, lo cual pudo haber influido a su vez sobre el valor de confiabilidad reportado, como se explicó en el apartado de discusión. Asimismo, si bien se obtuvo significancia estadística en la prueba de correlación de Spearman, su valor es muy bajo.

Finalmente, es importante considerar que la bioimpedancia no constituye el estándar de oro para medición de composición corporal. No fue posible controlar el nivel de hidratación de cada participante, ayuno previo, ingesta de bebidas con cafeína o sus derivados, fase del ciclo menstrual o ingesta de fármacos. Estos factores pudieron ser fuente de error aleatorio en las mediciones antropométricas. Asimismo, las balanzas Omron® de la misma serie que el modelo utilizado en este estudio podrían sobreestimar los porcentajes de grasa corporal, especialmente en mujeres (37). Todos estos elementos implican que los valores antropométricos encontrados deben ser utilizados con cautela.

CONCLUSIONES

Los médicos generales de Costa Rica poseen escasos conocimientos básicos para brindar recomendaciones de AF y ejercicio a población adulta sana. Aquellas y aquellos profesionales que son físicamente inactivos poseen menor conocimiento en dicho tema. Es de gran importancia que las universidades que imparten la carrera de Medicina y Cirugía en Costa Rica refuercen esta área de conocimiento, dada la abundante evidencia científica que demuestra los beneficios de aumentar la AF y el ejercicio como prevención primaria de múltiples patologías.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alejandro Madrigal Lobo, Fiscal del Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica, por su invaluable ayuda al autorizar la ejecución de esta investigación, promover la colaboración de las médicas y los médicos, y facilitar el espacio físico para aplicar los instrumentos y realizar las mediciones antropométricas.

CONFLICTO DE INTERÉS

Declaramos que no existen conflictos de interés.

FINANCIAMIENTO

El estudio fue financiado en su totalidad por SJM.

Martin BW, Padlina O, Martin-Diener E, Bize R, Cornuz J, Kahlmeier S. Physical Activity Promotion in the Health Care Setting in Switzerland. Schweiz Z Med Traumatol. 2014; 62(2):19–22.

Gabrys L, Jordan S, Schlaud M. Prevalence and Temporal Trends of Physical Activity Counselling in Primary Health Care in Germany from 1997–1999 to 2008–2011. Int J Behav Nutr Phys Act. 2015; 12:136. doi: 10.1186/s12966-015-0299-9

REFERENCIAS

1. Naci H, Ioannidis JPA. Comparative Effectiveness of Exercise and Drug Interventions on Mortality Outcomes: Metaepidemiological Study. The BMJ. 2013; 347:f5577. doi: 10.1136/bmj.f5577

2. Sallis R. Exercise is Medicine: a Call to Action for Physicians to Assess and Prescribe Exercise. Phys Sportsmed. 2015; 43(1):22–26. doi: 10.1080/00913847.2015.1001938

3. Lobelo F, de Quevedo IG. The Evidence in Support of Physicians and Health Care Providers as Physical Activity Role Models. Am J Lifestyle Med. 2016; 10(1):36–52. doi: 10.1177/1559827613520120

4. Stanford FC, Durkin MW, Stallworth JR, Powell CK, Poston MB, Blair SN. Factors that Influence Physicians' and Medical Students' Confidence in Counseling Patients about Physical Activity. J Prim Prev. 2014; 35:193–201. doi: 10.1007/s10935-014-0345-4

5. Fie S, Norman IJ, While AE. The Relationship Between Physicians' and Nurses' Personal Physical Activity Habits and their Health-Promotion Practice: a Systematic Review. Health Educ J. 2012; 72(1):102-119. doi: 10.1177/0017896911430763

6. Hébert ET, Caughy MO, Shuval K. Primary Care Providers' Perceptions of Physical Activity Counselling in a Clinical Setting: a Systematic Review. Br J Sports Med. 2012; 46(9):625–31. doi: 10.1136/bjsports-2011-090734

7. Cardinal BJ, Park EA, Kim M, Cardinal MK. If Exercise is Medicine, Where is Exercise in Medicine? Review of U.S. Medical Education Curricula for Physical Activity-Related

Content. J Phys Act Health. 2015; 12:1336–1343. doi: 10.1123/jpah.2014-0316

8. Hill LL, Nichols J, Wing D, Waalen J, Friedman E. Training on Exercise is Medicine® Within an Integrative Medicine Curriculum. Am J Prev Med. 2015; 49(5S3):S278–S284. doi: 10.1016/j.amepre.2015.08.018

9. Ng V, Irwin JD. Prescriptive Medicine: the Importance of Preparing Canadian Medical Students to Counsel Patients Toward Physical Activity. J Phys Act Health. 2013; 10:889–899.

10. Stoutenberg M, Stasi S, Stamatakis E, et al. Physical Activity Training in US Medical Schools: Preparing Future Physicians to Engage in Primary Prevention. Phys Sportsmed. 2015; 43(4):388–94. doi: 10.1080/00913847.2015.1084868

11. Grandes G, Sánchez A, Sánchez-Pinilla R, et al. Effectiveness of Physical Activity Advice and Prescription by Physicians in Routine Primary Care: a Cluster Randomized Trial. Arch Intern Med. 2009;169(7):694–701. doi: 10.1001/archinternmed.2009.23

12. Marshall AL, Booth ML, Bauman AE. Promoting physical activity in Australian general practices: a randomised trial of health promotion advice versus hypertension management. Patient Educ Couns. 2005; 56(3):283–290. doi: 10.1016/j.pec.2004.03.002

13. McPhail S, Schippers M. An Evolving Perspective on Physical Activity Counselling by Medical Professionals. BMC Fam Pract. 2012; 13:31. doi: 10.1186/1471-2296-13-31

14. Martin BW, Padlina O, Martin-Diener E, Bize R, Cornuz J, Kahlmeier S. Physical Activity Promotion in the Health Care Setting in Switzerland. Schweiz Z Med Traumatol. 2014; 62(2):19–22.

15. Gabrys L, Jordan S, Schlaud M. Prevalence and Temporal Trends of Physical Activity Counselling in Primary Health Care in Germany from 1997–1999 to 2008–2011. Int J Behav Nutr Phys Act. 2015; 12:136. doi: 10.1186/s12966-015-0299-9

16. Duperly J, Lobelo F, Segura C, et al. The Association Between Colombian Medical Students' Healthy Personal Habits and a Positive Attitude Toward Preventive Counseling: Cross-Sectional Analyses. BMC Public Health. 2009; 9:218. doi: 10.1186/1471-2458-9-218

17. Ramírez-Cardona L, Trejo-Varón R, Barengo NC. Prácticas y consejería de actividad física en médicos generalistas de Argentina. Rev Salud Pública. 2013; 15(3):455–464.

18. Florindo AA, Mielke GI, de Oliveira Gomes GA, et al. Physical Activity Counseling in Primary Health Care in Brazil: a National Study on Prevalence and Associated Factors. BMC Public Health. 2013; 13,794. doi: 10.1186/1471-2458-13-794

19. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. Public Health Rep. 1985; 100(2):126–131.

20. Helmerhorst HJF, Brage S, Warren J, Besson H, Ekelund U. A Systematic Review of Reliability and Objective Criterion-Related Validity of Physical Activity Questionnaires. Int J Behav Nutr Phys Act. 2012; 9:103. doi: 10.1186/1479-5868-9-103

21. American College of Sports Medicine, Pescatello LS. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins Health: Philadelphia; 2014.

22. Riebe D, Franklin BA, Thompson PD, et al. Updating ACSM's Recommendations for Exercise Preparticipation Health Screening. Med Sci Sports Exerc. 2015; 47(11):2473–2479. doi: 10.1249/MSS.0000000000000664

23. Crocker L, Algina J. Introduction to Classical and Modern Test Theory. CENGAGE Learning: Ohio; 2006. ISBN: 0495395919

24. Lawshe CH. A Quantitative Approach to Content Validity. Pers Psychol. 1975; 28:563–575.

25. Ayre C, Scally AJ. Critical Values for Lawshe's Content Validity Ratio: Revisiting the Original Methods of Calculation. Meas Eval Couns Dev. 2014; 47(1):79–86. doi: 10.1177/0748175613513808

26. Kuder GF, Richardson MW. The Theory of the Estimation of Test Reliability. *Psychometrika. 1937; 2:151–160.*

27. Anastasi A, Urbina S. Tests psicológicos. Prince Hall: México; 1998.

28. Jiménez S, Hernández-Elizondo J. Actividad física y otros hábitos de vida de estudiantes de medicina de la Universidad de Costa Rica. Revista de Ciencias del Ejercicio y la Salud. 2016;14(1):1–14. doi: 10.15517/pensarmov.v14i1.19294

29. Khairani AZ, Shamsuddin H. Assessing Item Difficulty and Discrimination Indices of Teacher-Developed Multiple-Choice Tests. En Tang S, Logonnathan L. Assessment for Learning Within and Beyond the Classroom (p. 417–426). Springer: Singapur; 2016.

30. Traub RE, Rowley GL. Understanding Reliability. National Council on Measurement in Education: Philadelphia; 1991.

31. Thorndike RM, Cunningham GK, Thorndike RL, Hagen EP. Measurement and Evaluation in Psychology and Education. 5th ed. MacMillan: New York; 1991.

32. Streiner DL. Starting at the Beginning: An Introduction to Coefficient Alpha and Internal Consistency. J Pers Assess. 2003; 80(1):99–103.doi: 10.1207/S15327752JPA8001_18

33. Cardinal BJ, Park EA, Kim M, Cardinal, MK. If Exercise is Medicine, Where is Exercise in Medicine? Review of U.S. Medical Education Curricula for Physical Activity-Related Content. J Phys Act Health. 2015; 12: 1336–1343. doi: 10.1123/jpah.2014-0316

34. Weiler R, Chew S, Coombs N, Hamer M, Stamatakis E. Physical Activity Education in the Undergraduate Curricula of all UK Medical Schools. Are Tomorrow's Doctors Equipped to Follow Clinical Guidelines? Br J Sports Med. 2012; 46(14): 1024–1026. doi: 10.1136/bjsports-2012-091380

35. Burdick L, Mielke GI, Parra DC, Gomes G, et al. Physicians', nurses' and community health workers' knowledge about physical activity in Brazil: A Cross-sectional study. Prev Med Rep. 2015; 2: 467–472. doi: 10.1016/j-pmedr-2015-06-001

36. Ng V, Irwin JD. Prescriptive Medicine: the Importance of Preparing Canadian Medical Students to Counsel Patients Toward Physical Activity. J Phys Act Health. 2013; 10(6):889–899.

37. Pribyl MI, Smith JD, Grimes GR. Accuracy of the Omron HBF-500 Body Composition Monitor in Male and Female College Students. Int J Exerc Sci. 2011; 4:93–101.

Actualidad
Médica

REVISIÓN

Actual. Med.
2017; 102: (802): 162-168

Enviado: 15-10-2017
Revisado: 22-10-2017
Aceptado: 25-11-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.re01

¿Es la enfermedad periodontal un factor de riesgo de quimio-osteonecrosis maxilar asociada a bisfosfonatos?

Is periodontal disease a risk factor of maxillar chemical osteonecrosis associated with bisphosphonates?

Elena Beatriz Bermúdez Bejarano[1], Miriam Bermúdez Bejarano[2], Daniel Torres Lagares[3] José Luis Gutiérrez Pérez[4]

[1]Premio Ciudad de Málaga del Colegio Oficial de Dentistas de Málaga, convocatoria 2013, otorgado por la Real Academia de Medicina y Cirugía de Andalucía Oriental
Licenciada en Odontología. Universidad Europea de Madrid
[2]Grado en Medicina. Universidad de Málaga
[3]Director del Master Propio en Cirugía Bucal. Facultad de Odontología. Universidad de Sevilla
[4]Director del Master Propio en Cirugía Bucal. Facultad de Odontología. Universidad de Sevilla

Resumen

Objetivo: La enfermedad periodontal constituye una de las patologías más comunes a nivel oral. Su componente infeccioso e inflamatorio ha sido propuesto como factor de riesgo en la aparición de quimio-osteonecrosis maxilar inducida por bisfosfonatos. El objetivo de esta revisión bibliográfica es revisar los resultados obtenidos en la literatura en cuanto a esta controvertida relación.
Material y Métodos: Siguiendo los ítems de las guías PRISMA del año 2010, se realizó una revisión bibliográfica en Pubmed de los artículos publicados en los últimos diez años.
Resultados: La búsqueda inicial en Pubmed devolvió 194 resultados. Tras la verificación manual se añadieron 30 más. Tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión se estudiaron en profundidad un total de 12 artículos (7 a favor de la hipótesis de considerar la enfermedad periodontal como un factor de riesgo de aparición de osteonecrosis maxilar y 5 en contra).
Conclusiones: Existe controversia en la literatura en considerar la enfermedad periodontal como factor de riesgo en la aparición de quimio-osteonecrosis maxilar inducida por bisfosfonatos. Aunque en el consenso de la American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons de 2014 la proponen como un factor local de la misma, la evidencia en que se basa dicha afirmación es aún débil y controvertida.

Palabras clave: Enfermedad periodontal; Osteonecrosis maxilar; Factores de riesgo; Bisfosfonatos

Abstract

Objective: Periodontal disease is one of the most common oral pathologies. Its infectious and inflammatory component has stimulated it to be proposed as a risk factor for bisphosphonate-induced maxillary chemo-osteonecrosis. But, because there are studies that find association and others do not, the objective of this literature review will be to gather the results obtained in the literature regarding this relationship so controversial.
Materials and Methods: Following the items in the PRISMA guidelines of the year 2010, a bibliographic review was carried out in Pubmed of the last ten years.
Results: The initial search in Pubmed returned 194 results and 30 in the manual verification, following the proposed elegibility criteria a flow chart was made. After applying the inclusion and exclusion criteria, a total of 12 articles were studied in depth (7 in favor of the hypothesis of considering periodontal disease as a risk factor for the appearance of ONJ and 5 against).
Conclusions: There is controversy in the literature to consider periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-induced maxillary chemo-osteonecrosis. Nevertheless, in the consensus of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons of 2014, they propose it as a local factor of the same.

Keywords: Periodontal disease, osteonecrosis jaw, risk factors, bisphosphonates

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Elena Beatriz Bermúdez Bejarano
elenabermudezbejarano@hotmail.com
C/Apamares N 17
Malaga 29016
637 34 38 35

INTRODUCCIÓN

La quimio-osteonecrosis maxilar inducida por bisfosfonatos es una exposición de hueso necrótico de más de ocho semanas de evolución, asociada a bisfosfonatos y con ausencia de radioterapia previa (1). Su etiología es desconocida pero existen factores de riesgo que pueden precipitarla tales como: factores relativos al tipo de bisfosfonatos (tipo, potencia, duración y dosificación), factores locales (acto quirúrgico oral, infección e inflamación oral, mala higiene bucal, traumas por prótesis), factores sistémicos-demográficos (terapia coadyuvantes con corticoides o inmunosupresores, alcohol, tabaco, diabetes, obesidad, hipertensión) y factores genéticos (citocromo P450) (1).

La enfermedad periodontal puede definirse como una infección inducida por un complejo bacteriano caracterizado por una respuesta inflamatoria del huésped a la placa bacteriana y sus productos, causando finalmente la destrucción de los tejidos periodontales (2,3). Por ello, se considera una patología infecciosa e inflamatoria, dos factores de riesgo locales reconocidos de la osteonecrosis maxilar (ONM), lo cual ha impulsado que haya sido propuesta como factor de riesgo de la misma.

En los cortes histológicos del estudio retrospectivo de Badros et al. (4), en 9 de las 17 lesiones de ONM se descubrió la presencia de bacterias periodontopatógenas dispuestas en un biofilm bacteriano. En los ocho cortes histológicos restantes, se observaron Actinomyces (4). Sedghizadeh et al. mediante técnica SEM (*Scanning electron microscopy*), encontraron que las especies bacterianas predominantes en la exposición de hueso necrótico correspondían a Fusobacterium, Staphylococcus, Steptococcus, Selenomonas, Treponemas y Actinomyces (5-9).

Hay que tener en cuenta que a este complejo bacteriano debe sumarse el medio oral establecido por la terapia con bisfosfonatos, que crea una disbiosis en la microbiota oral debido a la alteración en los mediadores de la respuesta inmune, por lo que puede provocarse un medioambiente favorecedor a la colonización de oportunistas tales como Parvimonas, Peptostreptococcus, Fusobacterium, Eubacterium, Dialister y Gemella, que fomenten la instauración de exposición de hueso necrótico (10, 11). No obstante, aún se desconoce el papel de los microorganismos en el desarrollo de ONM, ignorando si es primario, donde las bacterias contribuyen al aparecimiento de esta enfermedad o secundario, en la que las bacterias colonizan el hueso expuesto necrótico (5, 12, 13)

Si la superficie ósea está afectada por los bisfosfonatos y además sufre ONM, ésta puede incrementar la adhesión bacteriana y promover la perpetuación hacia las profundidades de los tejidos óseos (10, 11).

Existen pocas investigaciones actuales que identifiquen en un modelo animal la enfermedad periodontal como factor de riesgo en el desarrollo de ONM (14-16). En el estudio de Aghaloo et al. se colocaron ligaduras en ratas para recrear un medio compatible con periodontitis, sugiriendo que la enfermedad periodontal y la supresión del remodelado óseo desencadenado por el mecanismo de acción de los bisfosfonatos son factores que propician la exposición de hueso necrótico (15). Aguirre et al. observaron que en ratas tratadas con altas dosis de zolendronato parece exacerbar la respuesta inflamatoria y el daño en los tejidos periodontales induciendo la aparición de las lesiones de osteonecrosis maxilar (16).

En estudios realizados en humanos, bajo terapia con bisfosfonatos intravenosos, se han descrito signos y síntomas clínicos – radiológicos relacionados con la periodontitis, como disminución del soporte alveolar, ensanchamiento del ligamento periodontal y pérdida de dientes (17, 18). Se ha encontrado mayor prevalencia de periodontitis severa en pacientes con ONM comparado con los que no la presentan (18). E incluso, si en pacientes oncológicos en terapia con zolendronato se practican exodoncias en dientes con periodontitis, éstos pueden experimentar una curación del alveolo más retrasada que si se tratase de un diente diagnosticado de caries no restaurable (3).

Sin embargo, hay investigaciones en humanos que no relacionan la enfermedad periodontal con un riesgo de padecer ONM (19), y que no encuentran reducción en el soporte alveolar (20) ni cambios en el índice periodontal CPITN (*Community Periodontal Index of Treatment Needs*) que puedan relacionar una periodontitis incipiente con un posterior desarrollo de exposición de hueso necrótico (21).

Debido a que existe disparidad de criterio en el hecho de relacionar la enfermedad periodontal como factor de riesgo de quimio-osteonecrosis maxilar, el propósito que persigue este artículo es realizar una revisión de la literatura de los estudios efectuados en pacientes humanos sobre esta posible asociación, en los últimos 10 años.

MATERIAL Y MÉTODO

Para elaborar este artículo, se ha seguido los ítems de las guías PRISMA del año 2010, las cuales también se aplican a las revisiones sistemáticas y metaanálisis. Se realizó una revisión bibliográfica en Pubmed de los últimos 10 años con los siguientes términos: "*Osteonecrosis jaw AND periodontal disease*" y "*Osteonecrosis jaw AND periodontal disease risk factor*". Las búsquedas devolvieron 153 y 41 artículos respectivamente. Los artículos de consideraron adecuados atendiendo a los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

Publicaciones académicas en inglés, tales como ensayos clínicos, serie de casos y casos clínicos de al menos cinco pacientes humanos que padezcan quimio-osteonecrosis maxilar inducida por bisfosfonatos y analicen la enfermedad periodontal como factor de riesgo de la misma.

Criterios de exclusión:

Artículos que no cumplan el criterio de inclusión mencionado anteriormente, artículos no relacionados con el tema a investigar, artículos exentos de abstract o con autor anónimo y publicaciones académicas con menos de cinco pacientes humanos, cartas al editor, opiniones de expertos y tesis doctorales.

La selección se completó con la verificación manual de las citas bibliográficas que aparecieron en los artículos seleccionados, eligiendo las que se adaptaban a los criterios de elegibilidad establecidos.

Las publicaciones aceptadas fueron resumidas y se extrajeron los resultados de ocho parámetros recopilados en las Tablas 1 y 2, que son los siguientes: número de pacientes, tipo y ruta del bisfosfonato, causa de la terapia con bisfosfonatos, número y localización de ONM, factores de riesgo asociados a ONM en el estudio y relación de enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM.

RESULTADOS

La búsqueda inicial en Pubmed devolvió 194 resultados a los que se sumaron 30 artículos más en la verificación manual de las citas bibliográficas recogidas. En la Figura 1 se presenta un diagrama de flujo que indica el proceso aplicado hasta llegar a los 12 artículos seleccionados.

De los 12 artículos seleccionados de la literatura revisada, se han extraído sus principales características, creándose la Tabla 1 que resume los artículos que encuentran datos que apoyan a la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM y la Tabla 2, que agrupa a los artículos que no encuentran dicha evidencia.

Autor/Año/ Tipo de Estudio	Número pacientes	Bisfosfonatos: Tipo y ruta	Causa de la terapia con Bisfosfonatos	ONM: Número y localización	Factores de Riesgo asociados a ONM en el estudio	Enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM
Badros et al 2006 (4) **Estudio Retrospectivo**	22 pacientes	Pam IV Ac. Zolend IV Pam IV+ Ac. Zolend IV	Mieloma Múltiple	22 ONM Mandíbula: 15 Maxilar: 2 Ambos: 5	Exodoncia Ligamento Periodontal Ninguno	Hallazgos radiológicos cercano a ONM: Ensanchamiento de LPO
Hoff et al 2008 (25) **Estudio Retrospectivo**	3965 pacientes	Pam IV Ac. Zolend IV Pam IV + Ac. Zolend IV	Ca. Mama Mieloma Múltiple	29 ONM Mandíbula: 20 Maxilar: 9	Exodoncia Enfermedad Periodontal Exóstosis ósea Implantes dentales Trauma por prótesis	Enfermedad periodontal, en un 41 % de los pacientes que tienen ONM, comparados con los que no sufren ONM
Wehran et al 2010 (24) **Estudio Prospectivo**	40 pacientes	Pam IV Ac. Zolend IV	NR	20 ONM Localización: NR	Solo miden la EP como factor de riesgo de ONM mediante histología, inmuno-histoquímica y PCR	Hallazgos radiológicos cercano a ONM: Línea hipermineralizada alrededor de LPO, esclerosis y osteopetrosis del hueso alveolar y disminución del tejido blando periodontal
Yamazaki et al 2012 (18) **Estudio Retrospectivo**	126 pacientes	Alen Oral Pam IV Pam IV+ Ac. Zolend IV Ac. Zolend IV	Ca. Próstata Ca. Mama Ca. Riñón Mieloma Múltiple Osteoporosis	5 ONM Localización: NR	Duración, tipo y dosis de BF Esteroides Pobre higiene oral Quimioterapéutico Tabaco o alcohol Exodoncias	Prevalencia de periodontitis severa en un 20 % de los pacientes con ONM, comparado con un 7,4 % los que no la padecen.
Kos et al 2014 (26) **Estudio Retrospectivo**	81 pacientes	Pam IV Ac. Zolend IV Iban Oral Combinación BF	Mieloma Múltiple Tumores sólidos	29 ONM Localización: NR	Exodoncias Absceso dental Apiceptomía Implantes dentales Quistectomía No identificado	La pobre higiene oral, la enfermedad dental o periodontal puede desarrollar ONM
Kos et al 2014 (26) **Estudio Retrospectivo**	5 pacientes	Ac. Zolend IV Iban IV Denosumab Sunitib Bebacizumab Tensirolimus Everolimus	Ca. Mama Ca.Mama + Ca. Útero Ca. Renal Adenocarcinoma Pulmón Ca. Próstata	5 ONM Mandíbula: 5 Maxilar: 0 Ambos: 0	Enfermedad Periodontal Exodoncia	La infección periodontal y periapical, la movilidad dentaria, fístula y pericoronaritis fueron los síntomas más comúnmente reportados antes de la extracción dental y el desarrollo de la ONM en pacientes con este tipo de terapia
Manfredi 2017 (29) **Estudio Retrospectivo**	156 pacientes	Ac. Zolend IV	Ca. Mama Ca. Próstata Otros	17 ONM Mandíbula: 9 Maxilar:6 Ambas: 2	Enfermedad Periodontal Severa Exodoncia Tabaco Prótesis Removible Implantes dentales	La enfermedad periodontal severa y las exodoncias son las únicas variables dentales con asociación significativa de ONM

Tabla 1. Asociación positiva de la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM.
ABREVIATURAS: Alen: Alendronato, Iban: Ibandronato Pam: Pamidronato, Ac. Zolend: Ac. Zolendrónico, Clod: Clodronato, Rised Risedronato, BF: Bifosfonato, IV: Intravenoso, ONM: Osteonecrosis Maxilar, Ca: Cáncer, NR: No Reseñado, EP: Enfermedad Periodontal, LPO: Ligamento Periodontal, CAL: nivel de inserción clínica

DISCUSIÓN

Para discutir los resultados obtenidos en la revisión de la literatura, se van a dividir en dos bloques que representan las tablas elaboradas:

Asociación positiva de la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM

La infección e inflamación son factores de riesgo locales que están implicados en la patogénesis de la osteonecrosis maxilar (1). Ambos están presentes en la enfermedad periodontal, por lo que sería plausible que ésta tenga relación en el desarrollo de ONM (17, 22).

Si al componente infeccioso e inflamatorio se le suma el mecanismo de acción de los bisfosfonatos, en el que destaca la supresión en el remodelado óseo, el efecto modulatorio y disfuncional del sistema inmune, el deterioro en la angiogénesis y la toxicidad en los tejidos blandos, unido a algún factor de riesgo reconocido de la ONM, podría ser más susceptible la aparición de esta patología (14, 23). Al realizar biopsias de los especímenes del hueso expuesto necró-

Autor/Año/ Tipo de Estudio	Número pacientes	Bisfosfonatos: Tipo y ruta	Causa de la terapia con Bisfosfonatos	ONM: Número y localización	Factores de Riesgo asociados a ONM en el estudio	Enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM
Carmagnola et al 2008 (20) **Estudio Retrospectivo**	39 pacientes	Ac. Zolend IV Ac. Zolend IV+Pam IV	Ca. Riñón Ca. Próstata Ca. Mama Ca. Esófago Ca. Tiroides Mieloma Múltiple	20 ONM Localización: NR	Exodoncia Trauma protético Causa espontánea Duración y tipo de BF	No encuentra relación en que la enfermedad periodontal pueda incrementar la aparición de ONM
Estilo et al 2008 (19) **Estudio Retrospectivo**	310 pacientes	Pam IV Ac. Zolend IV Ac. Zolend IV+ Pam IV	Ca, Próstata Ca. Mama Mieloma Múltiple	28 ONM Mandíbula: 21 Maxilar: 12 Ambos: 2	Osteoartritis Artritis Reumatoide Enf. Hematológica Exodoncia Causa espontánea Exodoncia+ Causa espontánea Duración y tipo de BF Tipo de Cáncer	La pobre higiene oral y la enfermedad periodontal no demuestran tener un alto riesgo en el desarrollo de ONM
Vahtsevanos et al 2009 (21) **Estudio Retrospectivo**	1621 pacientes	Pam IV Iban Oral Ac. Zolend IV	Ca. Próstata Ca. Mama Mieloma Múltiple	80 ONM Localización: NR	Exodoncia Trauma por prótesis Duración, tipo y dosis de BF	Los datos del CPITN concluyen que la enfermedad periodontal no está relacionada con el aparecimiento de ONM
Thumbigere-Math et al 2014 (13) **Estudio Prospectivo**	25 pacientes	Ac. Zolend IV Pam IV Pam IV+Ac. Zolend IV	Ca. Mama Ca. Próstata Ca. Riñón Ca. Pulmón Mieloma Múltiple	27 ONM Mandíbula: 20 Maxilar: 7	Exodoncia Causa espontánea Implantes dentales Tto. Endodóntico Tto. Conservador	No encuentran asociación entre las medidas periodontales y el padecimiento de ONM
Krimmel et al 2014 (30) **Estudio Retrospectivo**	50 pacientes	Ac. Zolend IV Pam IV Clod Oral Alend Oral Rised Oral	Ca. Mama Ca. Próstata Ca. Riñón Mieloma Múltiple Osteoporosis	50 ONM Mandíbula: 31 Maxilar: 9 Ambos: 10	Exodoncias Presión en prótesis Causa espontánea Higiene oral	Importancia de un estatus oral saludable y un tratamiento periodontal como medida preventiva en el desarrollo de ONM de forma tardía

Tabla 2. Asociación negativa de la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM.
ABREVIATURAS: Iban: Ibandronato, Pam: Pamidronato, Clod: Clodronato, Alen: Alendronato, Rised: Risedronato, Ac. Zolend: Ac. Zolendrónico, BF: Bifosfonato, IV: Intravenoso, ONM: Osteonecrosis Maxilar, Ca: Cáncer, NR: No Reseñado, EP: Enfermedad Periodontal, LPO: Ligamento Periodontal, CAL: nivel de inserción clínica, CPITN: Community Periodontal Index of Treatment Needs

tico, se ha vislumbrado la presencia de complejo bacteriano. Alguna de las especies descubiertas son bacterias periodontopatógenas que forman parte del biofilm bacteriano de las lesiones de ONM (4).

Wehra et al., mediante cortes histológicos, técnicas inmunohistoquímicas y PCR **(***Polymerase Chain Reaction*), identificaron la disminución de Msx-1 y RANKL así como el aumento de BMP – 2/4, que se traduce en la disminución de las células óseas progenitoras y en el incremento de la diferenciación ósea terminal, pudiendo explicar los hallazgos radiológicos compatibles con esclerosis y osteopetrosis del hueso alveolar, la reducción en la proliferación de los tejidos blandos periodontales e incluso una línea hipermineralizada alrededor de ligamento periodontal (24).

Estos hallazgos radiológicos están de acuerdo con otros estudios de la literatura, en los que algunos autores encuentran ensanchamiento del ligamento periodontal (4) y otros, posteriormente a realizar exodoncia, describen que existe mayor pérdida del hueso alveolar en pacientes con ONM comparadas con los que no la tienen. Otros autores describen una prevalencia de periodontitis severa en un 20% de los pacientes que padecen ONM, comparados con un 7,4 % de los que no la tienen (18).

Hoff et al. encuentran que un 41% de los casos estudiados por ellos tienen periodontitis (25), observando pérdida severa en el CAL (*Clinical Attachment Level*) y disminución en el soporte alveolar. Es por ello que postula la enfermedad periodontal como evento precipitante de la quimio-osteonecrosis maxilar (22, 25).

El estudio retrospectivo de Kos et al, relaciona dos grupos de pacientes oncológicos bajo terapia con bisfosfonatos intravenosos, uno con ONM y otro sin esta patología, en los que examina el índice de higiene oral (OHI), índice de prevalencia de caries (DMFT), índice periodontal (CPITN) y hueso periodontal residual. Se observa que los tres índices tienen tendencia a empeorar en el grupo de ONM y que el porcentaje de bolsas profundas (mayor a 3 mm) fue de un 65,79% en el grupo de ONM, comparado con los que no la tienen, que fue de un 34,82%. Los autores sugieren que existe relación entre una pobre higiene oral y hueso expuesto necrótico, además de que las caries y enfermedad periodontal avanzada presentes en el grupo de ONM, requerirán exodoncia posterior, un factor muy reconocido en el desarrollo de ONM (26).

Estos hallazgos están en consonancia con otros estudios revisados (1, 25), en los que se defienden que la pobre higiene oral favorece el aparecimiento de las lesiones de ONM y si se realiza una extracción en estas condiciones, se potenciará la infección bacteriana, retrasando el proceso de curación y cicatrización del alveolo (27). Además, la enfermedad dental inflamatoria y/o infecciosa preexistente puede confundir la relación positiva entre exodoncia y riesgo de ONM (1). Es por ello que adoptando medidas preventivas, tales como fomentar la higiene oral, el buen estado bucodental, reducir las caries y el exquisito mantenimiento en el tratamiento periodontal, se aminorarán las manifestaciones del hueso expuesto necrótico, eliminando así factores de confusión (17).

En los estudios más recientes identificados se estudiaron a cinco pacientes que desarrollaron ONM y tuvieron afectación de los tejidos periodontales antes de las extracciones dentales, por lo

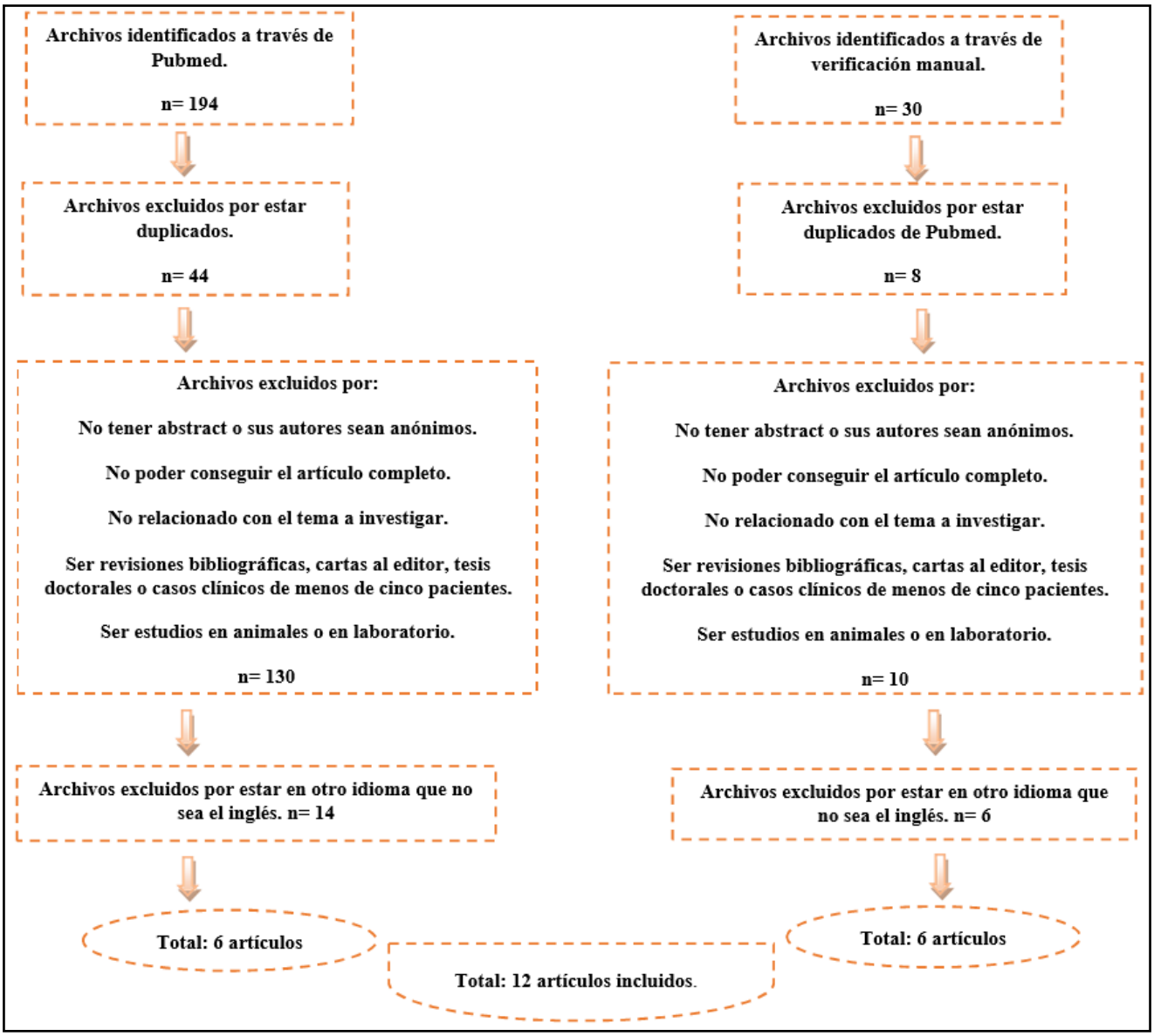


Figura 1. Diagrama de Flujo

que los autores concluyeron que sería necesario dilucidar si la enfermedad periodontal inició la ONM o si los signos cínicos y radiológicos de la afectación de los tejidos periodontales representaban la ONM ya establecida (28). En el segundo estudio retrospectivo reciente, los autores señalan que la enfermedad periodontal severa ($p<0,0025$) y la exodoncia ($p>0,0001$) fueron las únicas variables dentales que muestran una asociación significativa con la ONM (29).

Asociación negativa de la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM:

Existen investigaciones que fracasan en identificar a la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM. El estudio retrospectivo de Carmagnola et al., que examinó ortopantomografías, índice de prevalencia de caries (*Decayed, Missing, Filled Teeth*) y niveles de hueso óseo residual de pacientes oncológicos en terapia con bisfosfonatos intravenosos, contrastando los valores presentados por pacientes con ONM frente a los los que no la tienen, no encontrando reducción del soporte óseo alveolar en ninguno de los dos grupos y por tanto ninguna medida que represente una periodontitis activa. Sin embargo, reconoce que una larga exposición a la terapia con bisfosfonatos puede ser un riesgo para ONM (20).

Otro estudio retrospectivo, el de Estilo et al., tampoco demuestra que la pobre higiene oral o la presencia de enfermedad periodontal sean potenciadoras de la exposición de hueso expuesto necrótico, dado que las osteonecrosis maxilares ocurren en pacientes oncológicos en tratamiento con bisfosfonatos intravenosos que tienen buena higiene oral y carecen de una enfermedad dental o periodontal, por lo que sugieren que no representan un factor de riesgo en el aparecimiento de ONM (19). Como evento precipitante, señala la duración en la terapia con bisfosfonatos intravenosos y más estrechamente relacionado con el ácido zolendrónico.

Vahtsevanos et al. revisaron el índice periodontal CPITN (*Community Periodontal Index of Treatment Needs*). Los datos revelan que la periodontitis no se relaciona con un mayor desarrollo de ONM, aunque debe tenerse en cuenta las extracciones dentales, el uso de prótesis y el tratamiento con ácido zolendrónico, como sucesos acelerantes en la exposición de hueso necrótico (21).

Thumbigere-Math et al. analizaron los pacientes oncológicos en tratamiento con bisfosfonatos intravenosos y ONM, examinando mayor pérdida de dientes, pérdida en CAL (*Clinical Attachment Level*) mayor a 3 mm y menor soporte alveolar de pacientes con ONM comparado con los valores de pacientes que no tienen ONM.

Los autores no encontaron diferencias entre ambos grupos. En los parámetros periodontales tales como índice gingival (GI), índice de placa (PI), profundidad al sondaje (PD) y sangrado al sondaje (BOP) tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas en los grupos que tienen ONM con respecto a los que no la tienen. Sin embargo, en los grupos de ONM, en ausencia de terapia mecánica periodontal, se prescriben antibióticos y enjuagues orales, pudiendo ser el causante de la mejora de los parámetros clínicos periodontales en este grupo y enmascarar las diferencias entre los mismos en ambos grupos (13).

Otro estudio que demuestra que la enfermedad periodontal no tiene una influencia negativa en ONM es el estudio retrospectivo de Krimmel et al. Los pacientes que tienen periodontitis desarrollan ONM a los 26,3 meses, equiparados con los que no la tienen, que la padecen a los 27,4 meses. Estas diferencias no son estadísticamente significativas. No obstante, el índice de prevalencia de caries DMFT, que es un indicador indirecto del estado oral y dental, muestra que si es mayor a 20, los pacientes desarrollan hueso expuesto necrótico alrededor de los 14,4 meses en comparación con los que su valor es menor a 20, donde los pacientes la sufren alrededor de los 39,7 meses. Se puede concluir que la higiene oral y el estado dental puede tener influencia en la prevención de ONM, luego apostar por un cuidado dental exhaustivo y un tratamiento periodontal con periodicidad podría ser adecuado para que la exposición de hueso necrótico aparezca de una forma tardía (30).

Tras analizar los resultados obtenidos en la literatura, la mayoría de investigaciones están a favor de que la clave en los pacientes en terapia con bisfosfonatos es la prevención, por lo que la instauración de medidas preventivas en el no desarrollo de ONM será el arma fundamental para combatir esta patología. De esta manera, estaría indicado el tratamiento periodontal con un seguimiento de 4-6 meses en pacientes con periodontitis activa, así como fomentar el buen estado oral a través de cuidados dentales. De esta forma se aminorará el riesgo de pérdida de dientes por cualquier enfermedad dental y la posterior exodoncia a realizar por el fracaso dentario, esta última es uno de los factores más reconocidos como desencadenante de ONM (1, 13, 31, 32).

CONCLUSION

Se contempla una gran diversidad y controversia existente en cuanto a la enfermedad periodontal como factor de riesgo de ONM. Son necesarios más estudios con mayor número de pacientes, con un control exhaustivo de los posibles factores de riesgo asociados y con más seguimiento en el tiempo, para dilucidar si la enfermedad periodontal puede considerarse un evento precipitante en el desarrollo de ONM o por el contrario es un agente de confusión de otros factores reconocidos de la misma.

Tras la revisión efectuada, existe controversia en la literatura en considerar a la enfermedad periodontal como factor de riesgo de quimio-osteonecrosis maxilar inducida por bisfosfonatos. En el consenso de la AAOMS de 2014, la proponen como un factor local, caracterizada por ser una enfermedad concomitante oral y tener un componente infeccioso e inflamatorio, dos factores reconocidos en la patogénesis de ONM. No obstante, la base para dicha consideración es bastante débil, a nivel experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruggiero, SL; Dodson, TB; Fantasia, J, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw—2014 Update. J Oral Maxillofac Surg. 2014; 72(10):1938-56.

2. Kirkwood, KL; Cirelli, JA; Rogers, JE et al. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. Periodontol 2000.2007; 43:294-315.

3. Kato, GF; Lopes, RN; Jaguar, GC et al. Evaluation of socket healing in patients undergoing bisphosphonate therapy: Experience of a single Institution. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2013; 1; 18 (4):e650-6.

4. Badros, A; Weikel, D; Salama, A et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. J Clin Oncol. 2006;24(6):945-52.

5. Sedghizadeh, PP; Kumar, SK; Gorur, A et al. Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. J Oral Maxillofac Surg. 2008; 66(4):767-75.

6. Naik, NH; Russo, TA. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: The Role of Actinomyces. Clin Infect Dis. 2009; 49 (11): 1729-32.

7. Arranz Caso, JA; Flores Ballester, E; Ngo Pombe, S et al. Osteonecrosis maxilar asociada a los bifosfonatos e infección por Actinomyces. Med Clin. 2012; 139 (15) 676 – 680.

8. Schipmann, S; Metzler, P; Rössle, M et al. Osteopathology associated with bone resorption inhibitors – wich role does Actinomyces play? A presentation of 51 cases with systematic review of the literature. J Oral Pathol Med. 2013; 42(8): 587-593.

9. Anavi-Lev, K; Anavi, Y; Chaushu, G et al. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws: clinic – pathological investigation and histomorphometric analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013; 115(5): 660-666.

10. Wei, X; Pushalkar, S; Estilo, C et al. Molecular profiling of oral microbiota in jawbone samples of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Oral Dis. 2012; 18(6):602 – 12.

11. Pushalkar, S; Li, X; Kurago, Z et al. Oral microbiota and host innate immune response in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Int J Oral Sci. 2014.; 6(4):219-26.

12. Sedghizadeh, PP; Yooseph, S; Fadrosh, DW et al. Metagenomic investigation of microbes and viruses in patients with jaw osteonecrosis associated with bisphosphonate therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012; 114(6): 764–770.

13. Thumbigere-Math V, Michalowicz BS, Hodges JS et al. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. J Periodontol. 2014; 85(2):226-33.

14. Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. J Periodontol. 2008; 79(8 Suppl):1592-600.

15. Aghaloo, TL; Kang, B; Sung, EC et al. Periodontal Disease and Bisphosphonates Induce Osteonecrosis of the Jaws in the Rat. J Bone Miner Res. 2011 ; 26(8): 1871– 1882.

16. Aguirre, JI; Akhter, MP; Kimmel, DB et al. Oncologic Doses of Zoledronic Acid Induce Osteonecrosis of the Jaw-Like Lesions in Rice Rats (*Oryzomys Palustris*) with Periodontitis. J Bone Miner Res. 2012; 27(10): 2130–2143.

17. Ficarra, G; Beninati, F. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an update on clinical, pathological and management aspects. Head Neck Pathol. 2007; 1(2):132-40.

18. Yamazaki, T; Yamori, M; Ishizaki, T et al. Increased incidence of osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in patients treated with bisphosphonates: a cohort study. Int J Oral Maxillofac Surg. 2012; 41(11): 1397-1403.

19. Estilo CL, Van Poznak CH, Wiliams T et al. Osteonecrosis of the maxilla and mandible in patients with advanced cáncer treated with bisphosphonate therapy. Oncologist. 2008, 13 (8):911-920.

20. Carmagnola D, Celestino S, Abati S. Dental and periodontal history of oncologic patients on parenteral bisphosphonates with or without osteonecrosis of the jaws: A pilot study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.2008; 106(6):e10-5.

21. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-relatedosteonecrosis of the jaw. JClin Oncol. 2009; 27 (32):5356-5362.

22. Dunstan CR, Felsenberg D, SeibelMJ. Therapy insight: The risks and benefits of bisphosphonates for the treatment of tumor-induced bone disease. Nat Clin Pract Oncol. 2007; 4 (1):42-55.

23. Badran, Z; Kraehenmann, MA; Guicheux, J et al. Bisphosphonates in periodontal treatment: a review. Oral Health Prev Dent. 2009; 7(1):3-12.

24. Wehrhan, F; Hyckel, P; Ries, J et al.: Expression of Msx-1 is suppressed in bisphosphonate associated osteonecrosis related jaw tissue-etiopathology considerations respecting jaw developmental biology related unique features. J Translat Med. 2010; 13; 8:96.

25. Hoff, AO; Toth, BB; Altundag, K, et al. Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. J Bone Miner Res. 2008; 23(6):826-836.

26. Kos M. Association of dental and periodontal status with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. A retrospective case controlled study. Arch Med Sci. 2014; 10(1):117-23.

27. Mawardi H, Giro G, Kajiya M, et al. A role of oral bacteria in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. J Dent Res. 2011; 90(11) :1339-1345.

28. Nicolau-Galitis, O; Razis, E; Galitis, D et al. Periodontal disease preceding osteonecrosis of the jaw (ONJ) in cáncer patients receiving antiresorptives alone or combined with targeted therapies: report of 5 cases and literature reviw. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015; 120 (6): 699-706.

29. Manfredi, M; Mergoni, G; Goldoni, M et al. A 5 – years retrospective longitudinal study on the incidence and the risk factors of osteonecrosis of the jaws in patients treated with zolendronic acid for bone metastases from solid tumors. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2017; 1; 22 (3): e 342-8.

30. Krimmel, M; Ripperger, J; Hairass, M et al. Does dental and oral health influence the development and course of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ)? Oral Maxillofac Surg. 2014; 18(2):213-8.

31. Edwards, BJ; Hellstein, JW; Jacobsen, PL et al. American Dental Association Council on Scientific Affairs Expert Panel on Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw.Updated recommendations for managing the care of patients receiving oral bisphosphonate therapy: An advisory statement from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. J Am Dent Assoc. 2008; 139 (37):1674-1677.

32. Hellstein JW, Adler RA, Edwards B, et al; American Dental Association Council on Scientific Affairs Expert Panel on Antiresorptive Agents. Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: Executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. J Am Dent Assoc. 2011; 142:1243-1251.

33. Nisi, M; La Ferla, F; Karapetsa, D et al. Risk factors influencing BRONJ staging in patient receiving intravenous bisphosphonates: a multivariate analysis. Int J Oral Maxillofaxc Surg.2015; 44 (5): 586-591.

34. Bagán, J; Blade, J; Cozar, JM et al. Recommendations for the prevention, diagnosis and treatment of osteonecrosis of the jaw (ONJ) in cancer patients treated with bisphosphonates. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007; 12 (4): E336-40.

www.opinionmedica.es

Opinión Médica

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

La revista **de los médicos colegiados** de la provincia de Granada

PUBLICACIÓN
CUATRIMESTRAL

EDICIÓN
IMPRESA Y ONLINE

COLEGIO OFICIAL DE MÉDICOS DE GRANADA
COMG

Actualidad
Médica

CASO CLÍNICO

Actual. Med.
2017; 102: (802): 170-172

Enviado: 03-10-2017
Revisado: 06-10-2017
Aceptado: 27-10-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.cc01

Complicaciones oculares después de cirugía de quiste aracnoideo: Síndrome de Terson

Ocular complications after aracnoidous cyst surgery: Terson's Syndrome

Temblador-Barba, Irene. Martínez-Campillo, Laura. Rubio-Prats, Marina. Montoro-Moreno, Rosa María
Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Complejo Hospitalario Granada). España

Resumen
Objetivo: Describir un caso de síndrome de Terson, el cual se define como un síndrome oculocerebral en el que hay una hemorragia ocular acompañada de cualquier hemorragia intracraneal, y las diferentes opciones de tratamiento.
Método: Presentamos el caso de un paciente de 9 años que desarrolló visión borrosa después de una cirugía de quiste aracnoideo. Fue diagnosticado de síndrome de Terson como complicación postquirúrgica.
Resultado: Debido a la extensión de la hemorragia y a la edad del paciente, optamos por actitud expectante con revisiones periódicas. Al mes, la visión mejora en ambos ojos y el sangrado es de menor tamaño.
Conclusiones: En hemorragias leves sin riesgo, puede optarse por observación. Si hay complicaciones o el sangrado es muy abundante de entrada, se puede optar por vitrectomía. Entre una y otra opción terapéutica, se encontraría el láser Nd: Yag.

Palabras clave: Síndrome de Terson, hemorragia ocular, quiste aracnoideo

Abstract
Purpose: To describe a case of Terson syndrome, defined as an oculocerebral syndrome of ocular haemorrhage associated with subarachnoid haemorrhage or all forms of intracranial bleeding, and its treatment options.
Method: Here we report a 9-year-old male patient who suffered from blurred vision after surgery of an arachnoid cist. He was diagnosed as Terson syndrome as a complication due to the intervention.
Outcomes: We opted for observation and periodic reviews because of the extension of the haemorrhage and the age of the pacient. After a month, the vision improved in both eyes and the bleeding was smaller.
Conclusions: In mild haemorrhages without risk factors, only observation could be possible. If there are complications or the bleeding is very abundant at the beginnig, one good option is to performance a vitrectomy. In between of this two therapeutic options, the Nd: Yag laser could be considered as another alternative.

Keywords: Terson syndrome, ocular haemorrhage, arachnoid cist

INTRODUCCIÓN

Cualquier sangrado intracraneal, subaranoideo o subdural acompañado de sangrado intraocular se conoce como síndrome de Terson. El mecanismo por el que se produce el sangrado intraocular es discutido. Hay autores que defienden que la sangre es comprimida a través de la vaina del nervio óptico dentro de la órbita al mismo tiempo que en el cráneo, mientras que otros sugieren que es resultado de la hipertensión venosa y de la disrupción de las venas retinianas (1).

Se trata de un síndrome frecuentemente infradiagnosticado atribuible al posible déficit neurológico por parte del paciente en el momento de ser evaluado, circunstancia que le impediría a éste referir el déficit visual esperable y a que no siempre se realiza una evaluación oftalmológica rutinaria que permita descartar la existencia de un sangrado intraocular (2).

El síndrome de Terson se presenta en el 8-19% de las hemorragias subaracnoideas, 9% de las hemorragias intracerebrales y 3% de las lesiones traumáticas, aproximadamente. Se ha descrito una correlación estadísticamente significativa entre este síndrome y un mayor grado en la escala Hunt-Hess, que clasifica la severidad de una hemorragia subaracnoidea, y un valor disminuido en la escala Glasgow, si hay un estado de inconsciencia en el momento del diagnóstico o una presión intracraneal por encima de 25 mm de Hg, entre otros (3).

Presentamos el caso de un síndrome de Terson como complicación postquirúrgica del abordaje de un quiste aracnoideo.

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Irene Temblador Barba
Hospital Universitario de Jerez
Ronda de Circunvalación s/n · 11407 Jerez Fra.
Email: irenetemblador@gmail.com
Teléfono: 625431304

CASO CLÍNICO

Se presenta el caso clínico de un paciente varón de 9 años diagnosticado de quiste intraventricular aracnoideo derecho, el cual se correspondía con una formación quística de 3,8 cms (craneocaudal) x 2,5 cms (axial), adyacente y en intimo contacto con el trígono del ventrículo lateral derecho (VL), asociado a dilatación de asta temporal y occipital derechas del VL, objetivado por Resonancia Magnética (RM).

Con los años, el paciente sufre dificultad motora y se evidencia crecimiento de la lesión a través de la RM, con considerable distensión de la luz hacia región parietal derecha, compresión inferior de tálamo y desviando septum pellucidum hacia la izquierda (Fig. 1). Además, presenta dilatación hipertensiva de las astas temporal y en mayor grado de la occipital derecha, junto con edema de papila con agudeza visual (AV) 1 en ambos ojos (AO). Por la clínica y signos, se decide intervención quirúrgica por parte de Neurocirugía.

Tras ella el paciente refiere visión borrosa en AO. En la exploración oftalmológica, la AV es 0,1 en ojo derecho (OD) y 0,3 en ojo izquierdo. El segmento anterior, presión intraocular, movimientos oculares y reflejos pupilares son normales. En el fondo de ojo de AO se evidencia papila de bordes parcialmente borrosos con hemorragia prerretiniana abundante que afecta a mácula en OD (Fig 2). En la OCT se observa la hemorragia bilateral subhialoidea (Fig 3).

Se repite Resonancia Magnética de cráneo y órbita, donde no se aprecian alteraciones macroscópicas. Dada la presentación, se decide actitud expectante y revisiones periódicas.

Al mes, en el examen la AV es 0,3 en OD y 0,5 en OI, y la hemorragia bilateral ha disminuido de tamaño con respecto a la exploración previa.

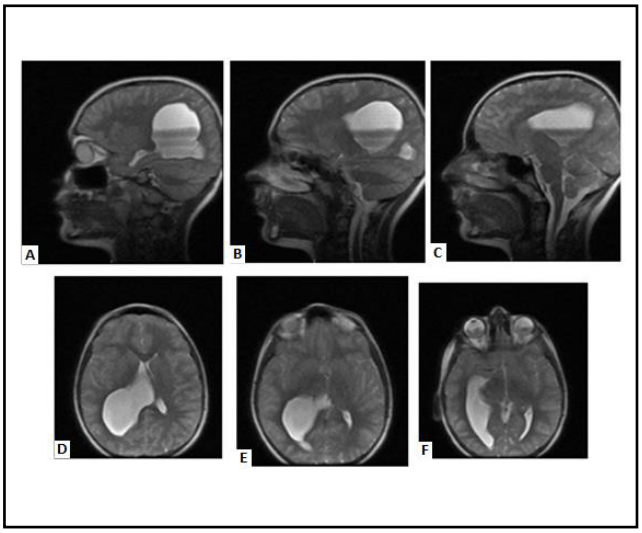


Figura 1. A, B y C. Imágenes de cortes sagitales de la RM craneal sin contraste intravenoso preoperatoria del quiste aracnoideo del paciente, desde planos más internos a planos más externos. D, E y F. Imágenes de cortes coronales de la RM desde planos más superficiales a planos más profundos, observando mayor afectación en el área derecha.

DISCUSIÓN

Las complicaciones tempranas postquirúrgicas en estos casos son raras y entre ellas están la meningitis, el hematoma, hemorragia o infección. Es muy importante tener en cuenta la posible aparición de hemorragia intraocular en pacientes con subidas de presión intracraneal (4). Mediante las pruebas de imagen no se evidenció sangrado intracraneal después de la cirugía, por lo

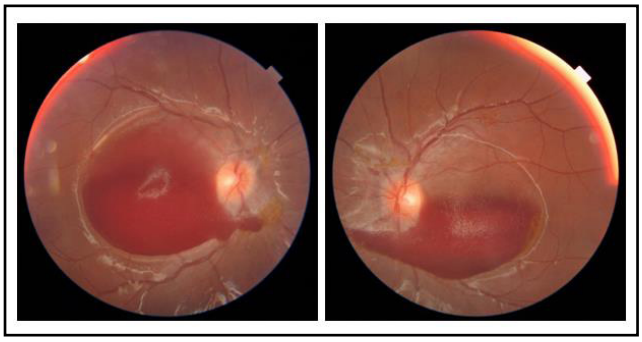


Figura 2. Imágenes del FO de AO, donde se observa la hemorragia bilateral subhialoidea, de mayor extensión en OD

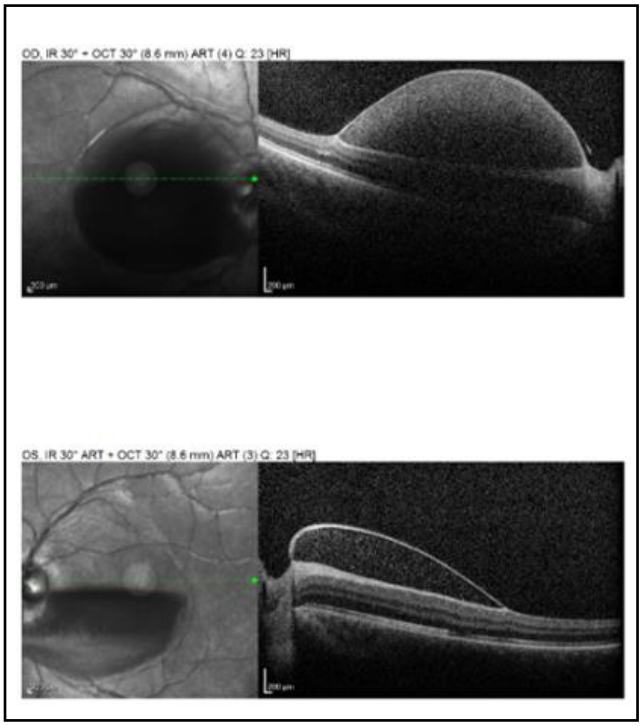


Figura 3. Imágenes de la OCT, donde se puede evidenciar la localización de la hemorragia

cual lo más probable es que sólo hubiera sangrado intracraneal intraquirúrgico o aparición de subida de presión intracraneal no mantenida, como se ha descrito en algunos casos (5).

En los pacientes con hemorragia intraocular por síndrome de Terson, la OCT puede usarse para identificar la localización de dicha hemorragia.

En cuanto al manejo, una opción en estos casos es la observación, sobre todo si son hemorragias leves. El tiempo de desaparición de la hemorragia es variable (6). Se pueden producir complicaciones como membranas epirretinianas (MER) o desprendimientos maculares traccionales por desarrollo de proliferación vitreorretiniana, que obligarían a realizar vitrectomía (7), aunque existen algunas series que reportan un mejor pronóstico cuando ésta es realizada en pacientes por debajo de los 45 años y antes de que hayan transcurrido 3 meses desde el sangrado intraocular (8). También se pueden desarrollar agujeros retinianos secundarios y disrupción del epitelio pigmentario de la retina, entre otros.

La observación, por tanto, se puede considerar como primera indicación según los siguientes factores: unilateralidad, extensión de la opacidad vítrea, signos de reabsorción espontánea, edad,

ocupación, necesidades visuales, estado psicológico y neurológico, papel familiar y riesgo de nueva cirugía.

Entre observación y vitrectomía podría estar el láser Nd:Yag en hemorragias subhialoideas y sub-membrana limitante interna para fotodisrupción del hematoma. El drenaje de la sangre al vítreo y posterior reabsorción permitirían la mejora de la AV además de descartar otros posibles problemas subyacentes como macroaneurismas retinianos o neovascularización subretiniana entre otros. Esta opción ha supuesto una alternativa para el tratamiento de algunas hemorragias prerretinianas, aunque hay que conocer sus posibles complicaciones, tanto el médico como el paciente (6).

En nuestro caso se optó por actitud expectante, también porque no había gran riesgo de ambliopía por la edad, objetivando en el tiempo una evolución favorable. En la evolución de estos pacientes, si no se presentan estas complicaciones y no hay reabsorción de la hemorragia, podría plantearse el drenaje con láser Nd: Yag, o incluso se puede programar de entrada según las características individuales. Si hay complicaciones, como aparición de MER entre otras, es necesario realizar vitrectomía, aunque ésta también puede indicarse de entrada y sobre todo si son sangrados extensos y duraderos (9).

Por todo ello, es muy importante el seguimiento estrecho de estos pacientes y poder detectar cualquier anomalía.

Actualmente, se necesitaría la realización de un estudio extenso para comparar las tres opciones de tratamiento y poder elaborar un protocolo más específico.

CONFLICTO DE INTERESES: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

CONFLICT OF INTEREST: No potential conflict of interest relevant to this article has been reported

BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez Ferreiro, AV., et al “Atypical presentation of Terson syndrome: Presentation of a case” Neurologia. 2012; 27(6):380-1

2. Wiethölter S, Steube D, Stotz HP. “Terson syndrome: a frequently missed ophthalmologic complication in subarachnoid hemorrhage”. Zentralbl Neurochir. 1998; 59 (3): 166–70.

3. Ko F, Knox DL. “The ocular pathology of Terson’s syndrome” Ophthalmology. 2010; 117 (7): 1423–9.e2.

4. George J.S., et al “Mystery Case: Terson syndrome on CT head” Neurology. 2016; 27;87(13):e133-4

5. Jing, XB., et al “Terson syndrome with no cerebral hemorrhage: A case report” Exp Ther Med. 2014; 7(1): 251–253.

6. Chinchurreta-Capote A., et al “Síndrome de Terson en malformación de Arnold Chiari I” Arch Soc Esp Oftalmol. 2007; 82 (2)

7. Lee S.H., et al “Terson Syndrome in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Case Report” Ann Rehabil Med. 2015;39(4):640-4

8. Garweg JG, Koerner F. “Outcome indicators for vitrectomy in Terson syndrome” Acta Ophthalmol. 2009; 87 (2): 222–6

9. Kuhn F., et al “Terson syndrome. Results of vitrectomy and the significance of vitreous hemorrhage in patients with subarachnoid hemorrhage” Ophthalmology. 1998; 105: 472-477

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102: (802): 173-175

Enviado: 01-12-2017
Revisado: 06-12-2017
Aceptado: 15-12-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.cc02

Linfoma maligno enmascarado como mieloma múltiple

Malignant lymphoma masquerading as multiple Myeloma

Juan Daniel Díaz García[1], Nela Melissa Parra Landázury [1,] Abel Fuentes Venegas[1]
[1] *Servicio de Medicina Interna, Hospital General "Dr. Manuel Gea González", Secretaría de Salud, Ciudad de México*

Resumen
Los hallazgos de hipercalcemia, lesiones líticas craneales, anemia de trastornos crónicos y lesión renal aguda, suelen ser característicos del mieloma múltiple. En el presente documento se describe un caso interesante de linfoma anaplásico de células grandes con características que imitaban un mieloma múltiple.

Abstract
The findings of hypercalcemia, cranial lytic lesions, anemia of chronic disorders and acute renal injury are often characteristic of multiple myeloma. Here we describe an interesting case of large cell anaplastic lymphoma with features mimicking multiple myeloma.

Palabras clave: Linfoma maligno, Mieloma múltiple, Hipercalcemia, Anemia, Lesión renal aguda, Lesiones osteolíticas.

Keywords: Malignant lymphoma, Multiple myeloma, Hypercalcemia, Anemia, Acute kidney injury, Bone lytic lesions.

INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple se caracteriza por una proliferación descontrolada de células plasmáticas monoclonales en la medula ósea, lo que lleva a una producción anómala de inmunoglobulinas y de sus cadenas.

El mieloma múltiple es responsable de 1 % de todo el cáncer a nivel mundial y de 10 a 15 % de las neoplasias hematológicas. El riesgo de desarrollar mieloma múltiple es mayor en grupos de edad avanzada. El promedio de edad de aparición es de 71 años en hombres y de 74 años en mujeres[1.]

En la mayoría de los pacientes la enfermedad se desarrolla a partir de la gamapatía monoclonal de significado incierto (MGUS) la cual se diagnostica comúnmente de manera incidental; MGUS confiere un riesgo de 1% por año de progresión a mieloma múltiple. Otra fase transicional es el mieloma latente la cual confiere un riesgo de progresión de 10% por año. Ambas entidades, a diferencia del mieloma múltiple sintomático, se caracterizan por ausencia de daño a órgano blanco[2].

El diagnóstico definitivo de mieloma múltiple se hace utilizando los criterios del International Myeloma Working Group los cuales son:

Mayor de 10% de células plasmáticas clonales en médula ósea o biopsia que evidencie plasmocitoma óseo o extramedular.

Y cualquiera de los siguientes eventos definitorios de mieloma:

Evidencia de daño a órgano blanco (CRAB): hipercalcemia >11 mg/dL, insuficiencia renal GFR <40 ml/min, anemia >2 g/dL por abajo del límite inferior y lesiones osteolíticas.

Cualquiera de los siguientes biomarcadores de malignidad: Más de 60% de células plasmáticas monoclonales en médula ósea, razón de cadenas ligeras libres en suero involucradas:no-involucradas >100, más de una lesión focal por resonancia magnética[3].

Existen cambios citogenéticos que se asocian a un mal pronóstico los cuales son evidenciados por hibridación fluorescente in situ (FISH). Estos son: t(4;14) y deleción 17p13 [4].

Los linfomas se originan del tejido linfoide. Se desarrollan como consecuencia de la expansión clonal de una u otra línea linfoide (linfocitos B o T y más raro NK), dando los dos grandes grupos: Linfoma Hodgkin (LH) y linfoma no Hodgkin. El linfoma no Hodgkin (LNH) comprende un grupo de enfermedades relacionadas entre sí. Cada variedad histológica de linfoma no Hodgkin se caracteriza por la transformación maligna de las células linfoides, con morfología, inmunofenotipo, genética y clínica diferente. El linfoma anaplásico de células grandes (LACG) es un grupo heterogéneo de linfoma no Hodgkin, descrito por Stein y col. en 1985[5]. Histológicamente está compuesto por células linfoides grandes anaplásicas con patrón de crecimiento cohesivo con propensión a invadir sinusoides de los ganglios linfáticos y

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Juan Daniel Díaz García
Dirección: Calzada de Tlalpan 4800, Tlalpan Centro I, Belisario Domínguez Secc 16, 14080 Tlalpan, Ciudad de México.
Correo electrónico: judan_digar@hotmail.com
Télefono: +52 5534133330

exhibe expresión constante de CD30 (linfoma Ki-1)[6]. Los LACG están compuestos por células T o células nulas (Null) y se presentan más frecuentemente en las primeras tres décadas de la vida, tienen diferencias clínicas y moleculares con las neoplasias histológicamente similares que presentan inmunofenotipo B. Por lo anterior, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto que el término de LACG sea restringido a los linfomas con in – munofenotipo T y nulo. Algunos LACG presentan la translocación t(2;5) (p23;q35) que resulta en la producción de la proteína ALK-1, que se manifiesta más en pacientes jóvenes y les confiere mejor pronóstico[7].

La estatificación se realiza con la escala de Ann Arbor la cual toma en cuenta la afectación ganglionar tanto en número como en distribución supra e infra diafragmática, si hay compromiso extraganglionar y si existen síntomas B [8].

Existe en la literatura un reporte de caso en donde se describe un linfoma no Hodgkin enmascarado por datos clínicos de mieloma múltiple. Se trata de un paciente masculino de 67 años originario de Hong Kong el cual tenía antecedente de dolor óseo generalizado, pérdida de 6 kg en tres semanas así como debilidad y poliuria de una semana de evolución. Una presentación clínica típica de mieloma múltiple. A la exploración física solo presentaba datos de deshidratación y adenopatías cervicales. Debido a la edad del paciente y el dolor óseo haría pensar en mieloma múltiple pero después de realizar biopsia ganglionar se hizo el diagnóstico de linfoma [9].

La coexistencia de HL y MM es rara pero existe un reporte de caso que describe a un paciente masculino de 45 años originario de China el cual fue diagnosticado de HL estadio III, durante su abordaje diagnostico se le realizó TAC y RMI las cuales mostraron lesiones osteolíticas, aumento de las cadenas IgA λ, y células plasmáticas aumentadas en el aspirado de médula ósea por lo que también se le diagnosticó mieloma múltiple [10].

CASO CLÍNICO

Masculino de 74 años con antecedentes de etilismo y tabaquismo crónicos, con cuadro clínico de 8 meses de evolución caracterizado por por pérdida de peso no intencioanda de 20 kilogramos, acompañado de anorexia, diaforesis nocturna y fiebre vespertina no cuantificada. A su ingreso a la unidad de urgencias se encontró con signos vitales dentro de los parámetros normales, con laboratorios que integraban una anemia normocítica normocrómica grado II OMS (Hemoglobina 8.8 g/dL) se solicitó cinética de hierro, vitamina B12 y folatos como parte de su abordaje, resultando un síndrome anémico por trastornos crónicos , Lesión renal aguda (Creatinina sérica 1.5 mg/dL), e Hipercalcemia (Calcio corregido 14.6 mg/dL) sin repercusión electrocardiográfica, con Antígeno prostático específico 3.49 ng/dL. A la exploración física se observó caquéxico, con palidez mucotegumentaria y tacto rectal sin alteraciones. Se realizó serie ósea radiológica, que reveló radiografía de cráneo con presencia de lesiones líticas en sacabocado en hueso frontal en patrón de "sal y pimienta" (Figura 1).

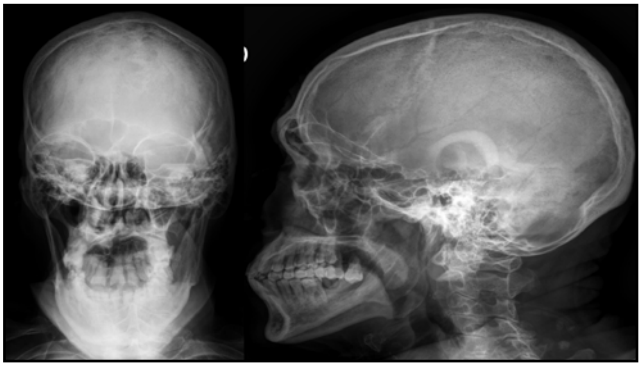


Figura 1. Radiografía de cráneo: Presencia de lesiones líticas en sacabocado en hueso frontal en patrón de "sal y pimienta"

Se realizó prueba de función hepática con Proteínas Totales en 6.71 g/dL y Globulina 4.39 g/dL, Inmunoglobulinas, unicamente con IgG ligeramente elevada 1098 mg/dL, resto normal, PTH (Parathormona) suprimida y Péptido relacionada con la PTH (PTHrP) negativo. Por la alta sospecha de mieloma múltiple, se realizó electroforesis de proteínas en suero que demostró: ALFA1 5.4% (2-3.5 %), ALFA1 0.26 (0.2-0.3 g/dL), ALFA2 0.84 g/dL (0.4-0.8 g/dL), ALFA2 17.7% (5.4-10.6%), GAMMA 1.23 g/dL (0.6-1.3 g/dL), GAMMA 25.7% (8-18%), resto dentro de la normalidad al igual que la electroforesis en orina. Posteriormente se realizó TAC de abdomen con evidencia de conglomerado ganglionar retroperitoneal y biopsia y aspirado de médula ósea con infiltración de céulas malignas, 8% de células plasmáticas de distribución perivascular e intersticial, observandose médula ósea fibrosa con céulas grandes de abundante citoplasma, núcleos grandes y nucléolo prominente (Figura 2), por tanto se realizó inmunohistoquímica y biopsia de ganglios retroperitoneales que evidenciarón linfoma anaplásico de céulas grandes, en donde las células neoplásicas fueron positivas para CD45 y a los marcadores T: CD45RO, CD43, CD3, CD4 y CD8, expresando en membrana y a nivel paranuclear EMA y CD30 como positividad al ALK-1 en citoplasma y núcleos (Figura 3).

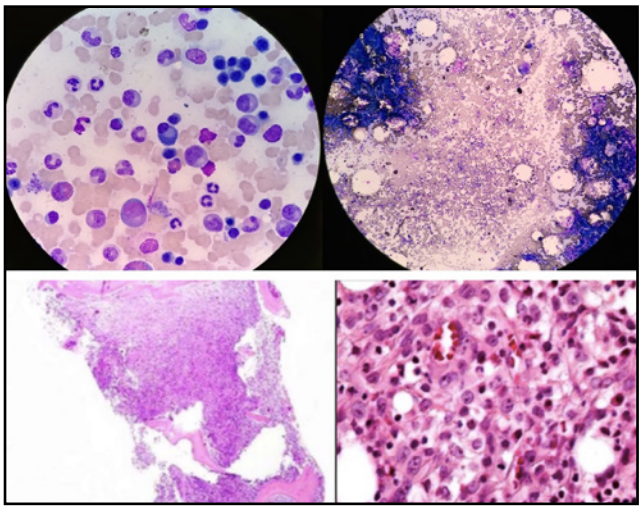


Figura 2. Biopsia y Aspirado de Médula Ósea: Infiltración de células malignas, 8% de células plasmáticas de distribución perivascular e intersticial, observandose médula ósea fibrosa con céulas grandes de abundante citoplasma, núcleos grandes y nucléolo prominente.

El paciente fue tratado con hidratación agresiva y Ácido Zolendrónico 4 mg IV dosis única con resolución de su hipercalcemia y lesión renal aguda. Con dicho diagnóstico inició seguimiento por parte del servicio de Oncología con tratamiento a base quimioterapia tipo CHOP y con mejoría de su sintomatología.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La hipercalcemia en el contexto del linfoma de células T puede ser el resultado de varios mecanismos. La hipercalcemia asociada a un proceso maligno suele clasificarse como mediada por calcitriol, inducida por PTHrP e hipercalcemia osteolítica local. En nuestro paciente, parece que la principal causa de hipercalcemia fue el aumento de la producción de calcitriol por las células de linfoma maligno. Los linfomas de células T raramente se presentan con hipercalcemia, lesión renal aguda y lesiones óseas líticas, que suelen ser caraterísticas para el mieloma múltiple, como parte del CRAB. La electroforesis negativa de proteínas en suero y en orina, lesiones óseas líticas, anemia y lesión renal debe hacernos considerar diagnósticos alternativos como el linfoma. La diferenciación entre estas dos condiciones no puede hacerse sobre la base de imágenes o estudios generales de laboratorio. La biopsia de médula ósea y el muestreo de ganglios linfáticos son siempre necesarios para realizar el diagnóstico final.

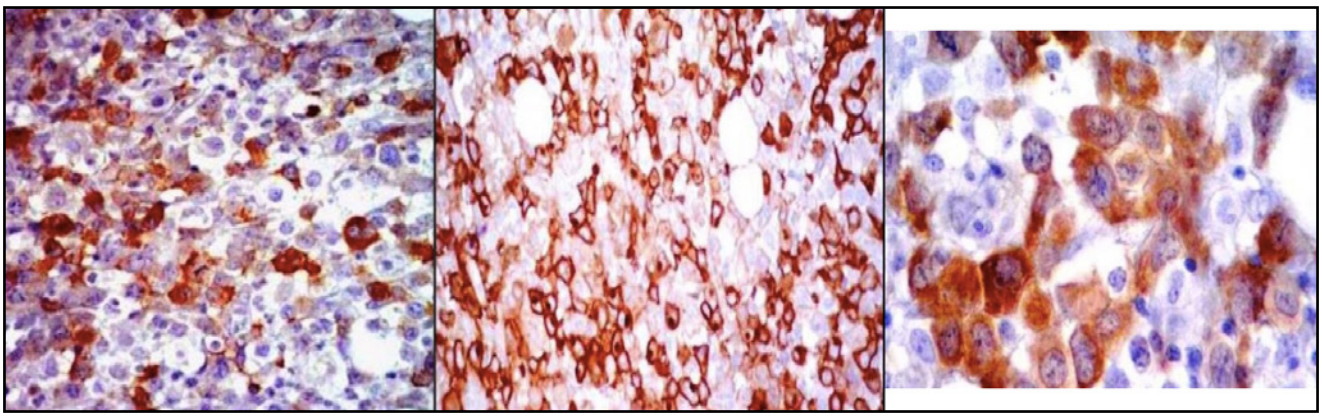


Figura 3. Inmunohistoquímica: Positividad para los marcadores del linfoma anaplásico EMA y CD30 con expresión en membrana citoplásmica y punto paranuclear, así como ALK-1 en núcleo y citoplasma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gerecke C, Fuhrmann S, Strifler S, Schmidt-Hieber M, Einsele H, Knop S. The diagnosis and treatment of multiple myeloma. Dtsch Arztebl Int 2016; 113 (27-28): 470–476.

2. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, Katzmann JA, Caporaso NE, Hayes RB, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. Blood 2009; 113 (22): 5412–17.

3. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet Oncol 2014; 15 (12): 538–48.

4. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. N Engl J Med 2011; 364 (11): 1046–60.

5. Lones MA, Sanger W, Perkins SL, Madeiros J. Anaplastic large cell lymphoma arising in bone. Report of a case of the monomorphic variant with the t(2;5) (p23;q35) translocation. Arch Pathol Lab Med 2000; 124 (9): 1339-43.

6. Medeiros LJ, Elenitoba J. Anaplastic large cell lymphoma. Am J Clin Pathol 2007; 127 (5): 707-22.

7. Delsol G, Ralfkiaer E, Stein H, Wright D, Jaffe ES. Anaplastic large cell lymphoma. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press 2001; 94 (7): 230-5.

8. Forteza J, Fraga M. Differential Diagnosis of Classic Hodgkin Lymphoma. Int J Surg Pathol Sup 2010; 18 (3): 124–127.

9. Chor C. Shiu MA, Chi L. Malignant Lymphoma Masquerading as Multiple Myeloma. Leuk Lymphoma 1998; 28(5-6): 607-611.

10. Chen H, Guimin Z, Lianjing W, Huichao Z, Xiaolin W. Simultaneous occurrence of Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma: A case report and review of the literature. Oncol lett 2016; 11 (6): 4139-4143.

CASO CLÍNICO

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102: (802): 176-177

Enviado: 12-11-2017
Revisado: 19-11-2017
Aceptado: 10-12-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.cc03

Non-secretory multiple myeloma presenting as pathological fractures: a diagnostic dilemma

Fracturas patológicas como forma de presentación de un mieloma múltiple no secretor: un dilema diagnóstico

Emilio Guirao Arrabal[1], María Francisca Parra Montoya[2], Jesús González Oliveros[3], María Montes Ruiz-Cabello[1], Pedro Luis Carrillo Alascio[1]

[1]*Internal Medicine Unit. Hospital La Inmaculada. Huércal-Overa, Almería, Spain*
[2]*Radiology Unit. Hospital La Inmaculada. Huércal-Overa, Almería, Spain*
[3]*Haematology Unit. Hospital La Inmaculada, Huércal-Overa, Almería, Spain*

Abstract

We present the clinical case of a 60 year-old woman who was admitted to our hospital referring a precordial pleuromechanic pain and was diagnosed with multiple bone fractures. A bone marrow biopsy gave the diagnosis of multiple myeloma and no monoclonal peak was detected, neither light chains in blood nor urine. The final diagnosis was non-secretory multiple myeloma and secondary spontaneous fractures. Non-secretory multiple myeloma represents only 3% of all multiple myelomas and has several characteristics that make it important to distinguish from other myelomas

Keywords: multiple myeloma; non-secretory multiple myeloma; bone marrow biopsy.

Resumen

Presentamos el caso de una mujer de 60 años de edad que acudió a nuestro hospital por dolor precordial pleuromecánico y fue diagnosticada de fracturas óseas multiples. La biopsia de médula ósea dio el diagnóstico de mieloma multiple y no se detectó pico monoclonal, ni tampoco cadenas ligeras en sangre ni orina. El diagnóstico final fue de mieloma múltiple no secretor y fracturas espontáneas secundarias. El mieloma múltiple no secretor representa solo el 3% del total de mielomas múltiples y tiene características peculiares que hacen necesaria su distinction del resto de mielomas.

Palabras clave: mieloma múltiple; mieloma múltiple no secretor; biopsia de medulla ósea.

INTRODUCTION

Pathological fractures represent a diagnostic challenge by including in their differential diagnosis several types of solid tumors, hematological neoplasms, endrocrinometabolic pathologies, and also primary benign and malignant bone tumors and even bone infectious processes. We present a case of a patient with multiple pathological fractures who was diagnosed by bone marrow biopsy.

CLINICAL CASE

A 60-year-old woman, smoker of 20 cigarettes/day, without any previous disease, and no familiar history of interest, was admitted to our hospital referring an intense, precordial, sudden onset pleuromechanic pain. The patient was hemodynamically stable, afebrile and breathing eupneic. At the abdominal palpation, she had epigastric pain, radiated from the sternum. The rest of examination was normal. She had a weight of 45 kg and a height of 1.55 m (BMI 18.7 kg/m^2).

Blood tests results: haemoglobin 10.9 g/dL; leukocytes, platelets and basic clotting study were normal; biochemical urea 60 mmol/dL, calcium 10.9 mg/L, phosphorus 5 mg/L, total proteins 6.3 g/L, and intact PTH 8.6 pg/mL. Calcium and phosphorus in 24-hours-urine were both normal. The protein profile showed an elevation of alpha-1 and alpha-2 fractions, with reduced gamma fraction (IgG, M and A were low).

Chest X-ray and computed tomography (CT) showed generalized osteopenia, and a left clavicle and medial 3rd left rib fractures. Abdominal-CT also showed a vertical right sacral wing fracture (image 1). Tecnecium-99 metastable scintigraphy confirmed a focus of tracer uptake in the left clavicle, but did not show any pathological deposition of activity attributable to a metastatic origin.

A bone-marrow biopsy (right iliac) was taken and sample sent for pathological study, which gave the final diagnosis of mul-

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Emilio Guirao Arrabal.
Internal Medicine Unit. Hospital La Inmaculada. Avenida Ana Parra s/n.
C.P. 04600. Huércal-Overa. Almería. España.
E-mail: emilio.guirao@gmail.com
Teléfono : +34 950029151

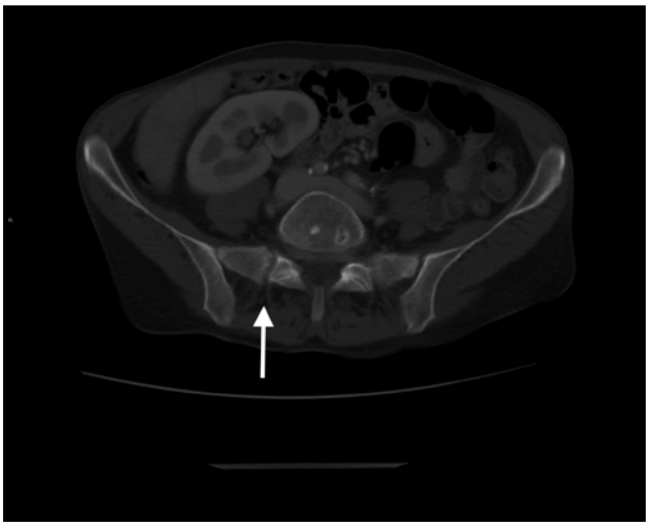


Image 1. Vertical right sacral wing fracture on computed tomography (arrow).

tiple myeloma (MM) (70% neoplastic plasmatic cells: CD38 ++/+++, CD56 +, CD138+ and kappa IgG cytoplasmic; CD45 and CD117 negative). Kappa and lambda light chains and kappa/lambda index were normal in both blood and urine samples. No immunofixation was detected.

Final diagnosis: Non-secretory Multiple Myeloma (NSMM) associated with spontaneous fractures.

DISCUSSION

MM is a neoplastic disease whose origin is in the bone marrow infiltration by plasma cells that typically produce serum or urine proteins(1). Immunologically, non-secretory MM differentiates into those that produce immunoglobulins and others that do not. Therefore we must differentiate those tumors that have a deficit in protein production ("non-producing") from those who have a defect for protein secretion. Within the latter there is a subgroup that have the capacity to secrete small amounts of immunoglobulins (oligosecretory MM). Therefore we define as "true" NSMM as MM that does not produce immunoglobulins at all, given the current methods of immunofixation(2). This entity represents about 3% of all MM in some series(3). There is therefore confusion about the terminology and the current trend is to clearly establish the specific type of MM for every patient.

As for the clinical manifestations, the non-secretory MM tends to manifest with moderate to severe osteoporosis and bone fractures that can be multiple sometimes, as in our case (4). Anaemia is somewhat less frequent than in secretory MM and renal involvement is rare(2). In some series there seems to be a better prognosis of this subtype with respect to secretory MM(5).

The absence of a monoclonal gamma globulins' peak in proteinogram in NSMM can lead to difficulties in diagnosis. Clinicians may tend to perform some other explorations (endoscopies, PET-scans, etc.) in a patient with several osteolytic lesions and no suspicion for MM, in order to seek for a primary tumor.

CONCLUSION

This case seems extremely interesting, because this condition must be in the differential diagnosis of secondary osteoporosis and multiple osteolytic processes, even when no monoclonal gammaglobulin's peak in protein electrophoresis is found. We insist in the need to perform a bone-marrow study in these patients, even when there is no positivity for light chains or immunofixation.

Compliance with Ethical Standards:

This article is a clinical case report. No patient information or patients identification images are reported, therefore no informed consent was required. All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. This case report has no funding.

Conflictos de interés: Todos los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Fuentes de apoyo financiero: Ninguna.

REFERENCES

1. Palumbo A, Anderson K. Multiple Myeloma. N Engl J Med. 2011;364(11):1046–60.
2. Lonial S, Kaufman JL. Non-secretory myeloma: a clinician's guide. Oncology (Williston Park). 2013;27(9):924–928,930.
3. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders. Br J Haematol. 2003;121:749–57.
4. Middela S, Kanse P. Nonsecretory multiple myeloma. Indian J Orthop. 2009 Oct;43(4):408–11.
5. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. Mayo Clin Proc. 2003;78(1):21–33.

CARTAS AL EDITOR

Actual. Med.
2017; 102: (802): 178-179

Enviado: 07-11-2017
Revisado: 19-11-2017
Aceptado: 22-11-2017

DOI: 10.15568/am.2017.802.cd01

Actualidad
Médica

Escabiosis: la dermatoscopia puede ser la clave

Scabies: dermatoscopy could be the key

Elena Sola García[1], Gonzalo Blasco Morente[2]
[1]*Alumna de 6º de Grado en Medicina. Universidad de Granada.*
[2]*Unidad de Gestión Clínica, Dermatología Médico Quirúrgica y Venereología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.*

Estimado editor:

La escabiosis es una ectoparasitosis producida por *Sarcoptes scabiei* que en su forma típica cursa con prurito generalizado de predominio nocturno. Las lesiones más específicas de la escabiosis son el surco acarino y el signo del ala delta [(1)], sin embargo, a menudo se encuentran excoriadas a causa del rascado, lo que dificulta el diagnóstico diferencial con otras patologías que cursan con prurito.

Presentamos el caso de una mujer de 16 años derivada a consulta de dermatología por prurito generalizado y aparición de pápulas eritematosas en manos y pies que no desaparecen tras cinco meses en tratamiento con antihistamínicos orales y prednicarbato tópico. En la anamnesis refiere que el prurito es de predominio nocturno y apunta que tres de sus convivientes lo presentan. En la exploración física objetivamos la presencia de pápulas eritematosas, algunas de ellas excoriadas, localizadas fundamentalmente en palmas y regiones interdigitales de las manos (Figura 1A) y dorso de los pies (Figura 1B). A la dermatoscopia encontramos algunas lesiones lineales en forma de S itálica de 3-4 milímetros, compatibles con el surco acarino (Figura 1C).

El diagnóstico de la escabiosis se basa en gran medida en la historia y la exploración del paciente, así como en la historia familiar y de los contactos cercanos. Las manifestaciones clásicas incluyen prurito generalizado de mayor intensidad por la noche y la transmisión entre convivientes es frecuente. [(2)]

Además, la dermatoscopia constituye una herramienta válida para el diagnóstico de la escabiosis cuando el personal capacitado está disponible y, aunque a menudo se encuentra destruido por el rascado, el surco acarino constituye una lesión patognomónica de la escabiosis. [(3)]

La permetrina tópica al 5% es el tratamiento más efectivo para la forma típica de escabiosis [(4)], recomendándose dos aplicaciones separadas por un intervalo de una semana y el tratamiento simultáneo de los contactos cercanos del paciente. [(5)]

Como conclusión, destacar la importancia de considerar la escabiosis en el diagnóstico diferencial de los cuadros que cursan con prurito, ya que el retraso diagnóstico de los casos primarios y un tratamiento incorrecto favorece la propagación del *Sarcoptes scabiei* y el contagio, además de la repercusión psicosocial que tiene para el paciente un prurito de larga duración.

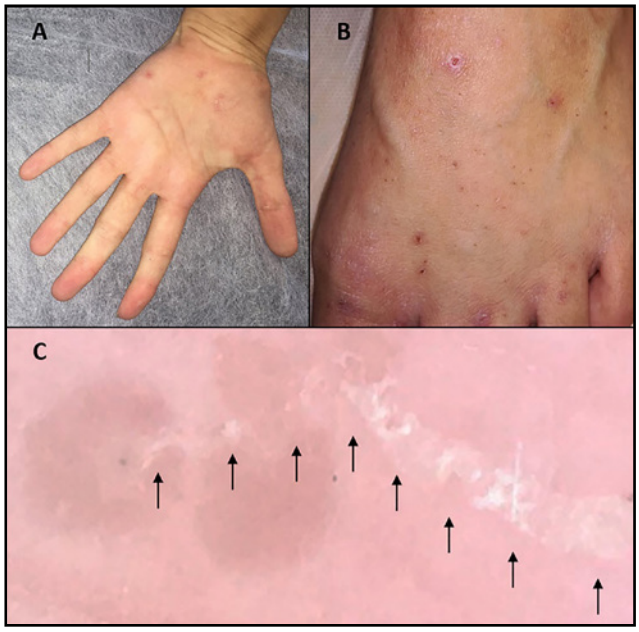


Figura 1. A: pápulas eritematosas localizadas en la palma de la mano izquierda; B: pápulas eritematosas y excoriadas en el dorso del pie izquierdo; C: surco acarino visualizado con dermatoscopia.

REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS

1. Argenziano G, Fabbrocini G, Delfino M. Epiluminiscence microscopy. A new approach to in vivo detection of Sarcoptes scabiei. Archives of Dermatology. 1997; 133(6): 751-3.

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Elena Sola García
C/ Madrid, nº 6 – 18102 Purchil (Granada)
elenasola@correo.ugr.es
661867374

2. Chosidow O. Scabies. The New England Journal of Medicine. 2006; 354:1718-72.

3. Walter B, Heukelbach J, Fengler G, Worth C, Hengge U, Feldmeier H. Comparison of Dermoscopy, Skin Scraping, and the Adhesive Tape Test for the Diagnosis of Scabies in a Resource-Poor Setting. Archives of Dermatology. 2011; 147(4): 468–473.

4. Campbell J, Paulson C, Nashelsky J. What is the most effective treatment for scabies? The Journal of Family Practice. 2017; 66(8): E11-E12.

5. Salavastru CM, Chosidow O, Boffa MJ, Janier M, Tiplica GS. European guideline for the management of scabies. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2017; 31(8): 1248-53.

AULA DE ONCOLOGÍA

Actualidad
Médica

Actual. Med.
2017; 102: (802): 180-182

Enviado: 28-11-2017
Revisado: 02-12-2017
Aceptado: 15-12-2017

DOI:10.15568/am.2017.802.ao01

Controversias en el abordaje de la trombosis en cáncer: tromboprofilaxis secundaria extendida y retrombosis

Controversies in the approach to thrombosis in cancer: extended secondary thromboprophylaxis and rethrombosis

David Fernández Garay, Fernando Gálvez Montosa, Natalia Luque Caro.
Complejo Hospitalario de Jaén

Resumen
Se presenta el caso de un varón de 45 años con adenocarcinoma de pulmón localmente avanzado diagnosticado a raíz de una trombosis venosa profunda y un tromboembolismo pulmonar sincrónico. Después de 6 meses de tratamiento anticoagulante con una heparina de bajo peso molecular, se decide reducir la dosis a niveles profilácticos y presenta un nuevo episodio de trombosis venosa profunda bilateral. Tras reintroducir la heparina a la dosis previa, presenta un tromboembolismo pulmonar masivo. Se hace una revisión de la evidencia acerca del tratamiento anticoagulante más allá de los 6 meses y del abordaje de la retrombosis en pacientes anticoagulados.

Palabras clave: enfermedad tromboembólica, heparina de bajo peso molecular, trombosis asociada a cáncer

Abstract
We present the case of a 45-year-old man with locally advanced lung adenocarcinoma diagnosed with deep vein thrombosis and synchronous pulmonary embolism. After 6 months of anticoagulant treatment with low molecular weight heparin, the dose was reduced to prophylactic levels and a new episode of bilateral deep vein thrombosis occurred. After reintroducing heparin to the previous dose, the patient suffered a massive pulmonary embolism. The authors conducted a review of the evidence about anticoagulant treatment beyond 6 months and the approach of rethrombosis in anticoagulated patients.

Keywords: thromboembolic disease, low molecular weight heparin, cancer-associated thrombosis

INTRODUCCIÓN

Durante el curso de la enfermedad, la aparición de un evento tromboembólico (ETE) en el paciente oncológico, en forma de trombosis venosa profunda (TVP) o tromboembolismo pulmonar (TEP), supone un factor de riesgo independiente que se asocia a una elevada morbilidad y mortalidad. En el estudio publicado por Khorana *et al*, en 2007, supone la segunda causa de muerte, tanto en pacientes con cáncer hospitalizados como ambulatorios (1).

En la práctica totalidad de las guías de práctica clínica existe consenso acerca de la duración del tratamiento anticoagulante con una heparina de bajo peso molecular (HBPM), siendo esta de entre 3-6 meses, para prevenir el riesgo de recurrencia de un nuevo ETE (2, 3, 4). Sin embargo, aún no se ha establecido cuanto tiempo se debe mantener la tromboprofilaxis secundaria más allá de los 6 meses y qué perfil de pacientes se beneficia de esta estrategia terapéutica. Esto es un punto importante ya que los pacientes con cáncer presentan un riesgo mayor de recurrencia de ETE en comparación con la población no oncológica (6).

En los últimos años se han publicado varios estudios prospectivos y un ensayo clínico aleatorizado en pacientes en tratamiento con HBPM con una duración hasta los 12 meses (7, 8, 9). Aunque informan de que se trata de fármacos seguros en esta clase de pacientes, estos estudios no demuestran un impacto en la reducción del riesgo de la aparición de ETE y, por tanto, no han supuesto un cambio en la práctica clínica.

Recientemente se han publicado los datos de un estudio positivo de no-inferioridad en el que se compara dalteparina con edoxabán, uno de los nuevos anticoagulantes orales, cuyo objetivo primario es el fracaso de tratamiento definido por el compuesto "recurrencia del evento tromboembólico o sangrado mayor" (10). Este estudio, aunque no supone tampoco un cambio en las recomendaciones actuales de tratamiento, sirve como generador de ideas para realizar ensayos clínicos con estos fármacos en la trombosis asociada a cáncer.

Finalmente, en lo que respecta al manejo de la recurrencia de la enfermedad tromboembólica existe escasa evidencia en la literatura. La mayoría de las guías clínicas hacen referencia a 2

© 2017. Actual. Med. Todos los derechos reservados

David Fernández Garay.
Dirección: Avenida de Andalucía Nº14 5ºDerecha Jaén.
Correo: davidfg112@gmail.com.
Teléfono: 616825270.

estudios retrospectivos publicados por el grupo de Carrier *et al* (11, 12), en los que se evalúa el riesgo/beneficio de un protocolo de actuación empírico para pacientes con cáncer que presentan recurrencia de ETE sintomática a pesar de recibir tratamiento anticoagulante. La guía de la sociedad española de oncología médica (SEOM) incluye un algoritmo de actuación en estos casos (6).

CASO CLÍNICO

Varón de 44 años sin antecedentes personales de interés.

En Diciembre de 2016 consulta en el servicio de urgencias por dolor gemelar izquierdo y signos flogóticos. En la analítica destaca Dímero D 33.608 ng/ml y en la ecografía doppler de miembros inferiores se aprecia TVP fémoro-poplítea izquierda. Se pauta bemiparina 10.000 UI/24h y se deriva a consulta de Enfermedad Tromboembólica.

Una semana más tarde acude refiriendo disnea de grandes esfuerzos, por lo que se solicita angio-TC torácico. La exploración evidencia un TEP segmentario en lóbulo inferior derecho, con hallazgo casual de nódulo pulmonar de 2 cm en lóbulo superior derecho. Se mantiene bemiparina a dosis terapéutica, y se completa estudio siendo diagnosticado de adenocarcinoma de pulmón estadio IIIB, PD-L1 positivo, EGFR y ALK negativos.

Se remite a Oncología y, desde Enero a Mayo de 2017, recibe tratamiento de quimio-radioterapia concomitante con cisplatino. En TC de reevaluación de Junio presenta progresión tumoral por aparición de metástasis en glándula suprarrenal derecha y en sexta costilla. Se decide iniciar nueva línea con inmunoterapia.

En Julio de 2017 acude a consulta de Enfermedad Tromboembólica para revisión tras 6 meses de terapia anticoagulante. Se repite la ecografía doppler sin signos de TVP. Al tener el paciente un proceso tumoral activo, se decide proseguir bemiparina con reducción de dosis al 50%.

Una semana más tarde ingresa por fiebre y dolor en miembro inferior derecho. Analíticamente, Dímero D 77.002 ng/ml. Se realiza angio-TC que descarta TEP y eco-doppler que objetiva TVP femoro-poplítea derecha y poplítea izquierda. Se reintroduce bemiparina a dosis previa y se procede al alta.

Dos semanas más tarde consulta por disnea brusca, tos, fiebre y dolor centrotorácico. Se constata insuficiencia respiratoria parcial y taquicardia sinusal, por lo que, ante sospecha de TEP, se repite angio-TC que confirma TEP masivo. Se decide intercambiar bemiparina por enoxaparina 120 mg cada 12 horas, aumentando un 20% de la dosis. Posteriormente, se solicitan niveles del anticuerpo antifactor X activado (anti-Xa) para valorar anticoagulación en rango terapéutico. Tras encontrarse los niveles en el límite inferior de la normalidad 0.75 UI/ml (valores normales de anticoagulación terapéutica: 0.8-0.12 UI/ml), se aumenta nuevamente la dosis en un 20% y es dado de alta.

El paciente continúa con tratamiento de inmunoterapia con enfermedad controlada hasta la fecha y sin más complicaciones tromboembólicas.

DISCUSIÓN

La primera cuestión que se plantea trata acerca de si el paciente debe continuar el tratamiento anticoagulante con heparina más allá de los 6 meses.

Las guías de práctica clínica no ofrecen recomendaciones sólidas debido a la falta de ensayos clínicos aleatorizados. Refieren que se debe individualizar la toma de decisiones y, en algunos casos, se puede apoyar en modelos de predicción del riesgo de recurrencia basados en variables clínicas y biomarcadores. Uno de estos modelos es el que se deriva de una cohorte retrospectiva de 543 pacientes tratados en Ottawa, en la que se identifican una serie de variables que establecen un score predictivo de recurrencia, el cual estratifica a los pacientes en dos grupos de riesgo (13). Posteriormente, este score fue validado en los ensayos clínicos CLOT y CANTHANOX, que fueron los primeros en comparar las HBPM y los antagonistas de la vitamina K, siendo el primero el responsable del cambio en el manejo de la trombosis asociada a cáncer a favor de las HBPM (14, 15, 16).

En nuestro paciente se decidió continuar la terapia anticoagulante a dosis profilácticas por encontrarse en tratamiento activo por progresión del tumor. Si aplicásemos el modelo de Ottawa, nuestro paciente tendría una puntuación de +2 y, por tanto, una alta probabilidad de recurrencia de un ETE. Aunque no existe una clara recomendación en las distintas guías clínicas, la opción de administrar dosis profilácticas no está recogida en la literatura y las guías abogan por mantener la misma dosis en caso de presentar el paciente un tumor activo en tratamiento antineoplásico.

El segundo problema a resolver se plantea cuando el paciente presenta una retrombosis bilateral de miembros inferiores. En nuestro caso, las causas que pueden explicar este fenómeno son la reducción previa de la dosis de heparina y la reciente progresión tumoral. Según las recomendaciones se debería retomar la dosis previa de heparina, que es lo que se realizó.

La última cuestión se presenta 2 semanas después cuando vuelve a ingresar por un TEP recurrente a pesar de estar correctamente anticoagulado. En estos casos, la SEOM recomienda descartar: la ausencia de cumplimiento terapéutico por parte del paciente, la anticoagulación a dosis infraterapéuticas y la trombocitopenia asociada a heparina. Una vez descartado lo anterior, en pacientes en tratamiento con HBPM, se debe aumentar la dosis en un 20-25%. Se debe reevaluar al paciente en 1 semana y, solo ante ausencia de mejoría clínica, recomiendan solicitar niveles del anti-Xa y ajustar la dosis. En nuestro paciente decidimos intercambiar bemiparina por enoxaparina cada 12 horas para mantener una anticoagulación más segura con aumento del 20% y, tras analizar los niveles del factor anti-Xa, aumentamos la dosis un 20% extra.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. J Thromb Haemost 2007; 5: 632–4.

2. Muñoz Martin AJ, Font Puig C, Navarro Martin LM, Borrega Garcia P, Martin Jimenez M; Spanish Society for Medical Oncology. Clinical guide SEOM on venous thromboembolism in cancer patients. Clin Transl Oncol. 2014; 16:1079-90.

3. Kearon C, Akl EA, Ornelas J, Blaivas A, Jiménez D, Bounameaux H, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: Chest guideline and expert panel report. Chest 2016; 149:315-52.

4. Mandala M, Falanga A, Roila F; ESMO Guidelines Working Group. Management of venous thromboembolism in cancer patients: ESMO Clinical Recommendations. Ann Oncol. 2011; Suppl 6:85-92.

5. Prandoni P, Lensing AW, Piccioli A, *et al.* Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis. Blood. 2002; 100: 3484-8.

6. Francis CW, Kessler CM, Goldhaber SZ, *et al*. Treatment of venous thromboembolism in cancer patients with dalteparin for up to 12 months: the DALTECAN Study. J Thromb Haemost. 2015; 13(6):1028-35.

7. Napolitano M, Saccullo G, Malato A, *et al.* Optimal duration of low molecular weight heparin for the treatment of cancer-relaed deep vein thrombosis: the Cancer-DACUS Study. J Clin Oncol. 2014; 32: 3607-12.

8. Jara L, Solier A, Elias T, *et al*. Tinzaparin in cancer associated thrombosis beyond 6 months: TiCAT study. Thrombosis Research. 2017; 157: 90-96.

9. Raskob GE, van Es N, Verhamme O, *et al*. Edoxaban for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism. N Engl J Med. 2017.

10. Carrier M, Le Gal G, Cho R, Tierney S, Rodger M, Lee AY. Dose escalation of low molecular weight heparin to manage recurrent venous thromboembolic events despite systemic anticoagulation in cancer patients. J Thromb Haemost. 2009; 7:760-5.

11. Ihaddadene R, Le Gal G, Delluc A, Carrier M. Dose escalation of low molecular weight heparin in patients with recurrent cancer-associated thrombosis. Thromb Res. 2014; 134:93-5.

12. Louzada ML, Carrier M, Lazo-Langner A, *et al*. Development of a clinical prediction rule for risk stratification of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer associated venous thromboembolism. Circulation 2012; 126: 448–54.

13. den Exter PL, Kooiman J, Huisman MV. Validation of the Ottawa prognostic score for the prediction of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer-associated thrombosis. J Thromb Haemost 2013; 11: 998–1000.

14. Meyer G, Marjanovic Z, Valcke J, *et al.* Comparison of low molecular weight heparin and warfarin for the secondary prevention of venous thromboembolism in patients with cancer: a randomized controlled study. Arch Intern Med. 2002; 162: 1729-35.

15. Lee AY, Levine MN, Baker RI, et al. Low molecular-weight heparin versus a coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer. N Engl J Med 2003; 349: 146–53.

Actualidad
Médica

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, 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/meshbrowser.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´sclinicalperiodontology. 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:Donaldsom L, May, R. Healthimplications of genetically-modifiedfoods [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 sera 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 reserve 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.

ACTUALIDAD MÉDICA

www.actualidadmedica.es

Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada